

**Aus der
Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Herr Prof. Dr. med. H.- J. Möller**

**Der Einfluss genetischer Variationen im NEFL-Gen
auf kognitive Phänotypen**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Carolin Cohen

aus
Wolfach

2012

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dan Rujescu

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Reinhard Werth

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Prof. Dr. med. Dan Rujescu

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h. c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 19.04.2012

Phantasie ist wichtiger als Wissen,
denn Wissen ist begrenzt
Albert Einstein

Meiner Familie gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung	1
2. Einleitung	3
2.1 Intelligenz	3
2.1.1 Definition der Intelligenz	3
2.1.2 Strukturmodelle der Intelligenz	5
2.1.2.1 Historische Intelligenzmodelle	6
2.1.2.2 Moderne Intelligenztheorien	10
2.1.3 Intelligenzmessung	14
2.2 Intelligenz und Genetik	17
2.2.1 Einflussfaktoren der Intelligenz	17
2.2.2 Zusammenhang von Gehirnstrukturen, Arbeitsgedächtnis und Intelligenz	18
2.2.3 Familien-, Adoptions- und Zwillingsstudien	18
2.3 Allgemeine Gesichtspunkte der Molekulargenetik	22
2.3.1 Kopplungsstudien	24
2.3.2 Assoziationsstudien	24
2.3.3 Assoziation genetische Polymorphismen verschiedener Gene und Neurotransmittersysteme mit Kognition	25
2.4 Neurofilamente	29
2.4.1 Allgemeine Aspekte	29
2.4.2 Aufbau und Struktur	30
2.4.3 Expression	34
2.4.4 Funktion (dargestellt anhand NEFL-Maus-Modellen)	35
2.4.5 Neurofilamente und Pathologien fokussiert auf NEFL	36
2.4.6 Oxidativer Stress	41
2.5 Fragestellung	43
3. Material und Methoden	45
3.1 Studiendesign	45
3.2 Vorbedingungen der Studiendurchführung	45
3.3 Studienteilnehmer	46
3.4 Klinisches Interview	46
3.4.1 Körperliche Untersuchung	47
3.4.2 Mini-Mental-State-Test (MMST)	47

Inhaltsverzeichnis

3.4.3	Strukturiertes Klinisches Interview	48
3.4.4	Family History Assessment Modul	48
3.4.5	Leipziger Belastungsinventar (LEBI)	49
3.5	Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene Revision 1991 (HAWIE-R)	49
3.5.1	Beschreibung der HAWIE-R Subtests	50
3.5.2	Testauswertung des HAWIE-R nach Tewes (1994)	54
3.6	Analyse der Polymorphismen rs2976441 und rs11779795 im NEFL-Gen	55
3.6.1	Materialien	56
3.6.2	DNA- Extraktion	57
3.6.2.1	Arbeitstechnischer Vorgang der DNA-Extraktion	58
3.6.2.2	Bestimmung der DNA-Konzentration	59
3.6.2.3	Messung der DNA-Konzentration	60
3.7	Genotypisierung	60
3.7.1	Assay-Design	61
3.7.2	Initiale PCR	61
3.7.2.1	PCR-Vorbereitung	61
3.7.2.2	PCR-Durchführung	62
3.7.2.3	Die Dephosphorylierung überschüssiger dNTPs	62
3.7.2.4	Extensionsreaktion	63
3.7.3	Massenspektrometrie	64
3.7.3.1	Vorbereitung	64
3.7.3.2	Messung	64
3.8	Statistische Auswertung	65
4.	Ergebnisse	66
4.1	Die Analyse des NEFL Polymorphismus rs2976441	66
4.1.1	Allelfrequenz	66
4.1.2	Genotyp	71
4.2	Die Analyse des NEFL Polymorphismus rs11779795	75
4.2.1	Allelfrequenz	75
4.2.2	Genotyp	79
5.	Diskussion	83
5.1	Zusammenfassung der Ergebnisse	83
5.2	Diskussion der Methoden	84

Inhaltsverzeichnis

5.2.1	Ethnische Abstammung	84
5.2.2	Rekrutierungsverfahren und Einschlußkriterien	85
5.2.3	Intelligenzdiagnostik	86
5.3	Diskussion der Ergebnisse	88
5.4	Ausblicke auf zukünftige Untersuchungen	94
6.	Abkürzungen und Fachbegriffe	96
7.	Literaturverzeichnis	99
8.	Danksagung	122

1 Zusammenfassung

Kognitive Fähigkeiten werden durch Umweltfaktoren und genetische Faktoren beeinflusst. Natürlich auftretende genetische Variationen (SNPs= *single nucleotide polymorphisms*) spielen dabei eine Rolle.

Neurofilamente weisen eine starke Beteiligung an Hirnintegrität und Hirnfunktion auf. Das Gen der Neurofilament-Leichtkette (NEFL) auf Chromosom 8p21 scheint eine Rolle bei neurodegenerativen Erkrankungen zu spielen, was sich durch eine pathologische Phosphorylierung und Anreicherungen von Neurofilamenten und insbesondere Neurofilament-Leichtketten, in vielen, die Kognition beeinflussenden Erkrankungen nachweisen lässt. Der dadurch entstehende neuronale Tod lässt sich wiederum durch eine verminderte Anzahl an NEFL in betroffenen Hirnstrukturen darstellen. Erhöhte Konzentrationen von NEFL im *Liquor cerebrospinalis* lassen sich als diagnostischen Marker bei Patienten mit neurodegenerativen Erkrankungen einsetzen.

In dieser Arbeit wurden zwei natürlich auftretende SNPs (rs2976441/rs11779795) des NEFL-Gens in Bezug auf eine Assoziation mit kognitiven Fähigkeiten untersucht.

Dazu wurden die genannten Polymorphismen bei 1166 (rs2976441) bzw. 1210 (rs11779795) neuropsychiatrisch gesunden, per Zufallsverfahren ausgewählten Probanden untersucht, gleichzeitig wurde eine Intelligenztestung mit dem HAWIE-R (Hamburger-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991) durchgeführt.

Probanden die das T-Allel des SNPs rs2976441 aufwiesen, zeigten für das T-Allel eine statistisch signifikante Assoziation mit den Subskalen Allgemeines Wissen und Gemeinsamkeiten finden. T-Allel Träger erreichten signifikant höhere Werte im Verbal-Intelligenzquotient. In Untersuchungen der Assoziation zwischen den Genotypen C/C, C/T und T/T zeigten Probanden mit dem Genotyp T/T tendenziell bessere Ergebnisse in den Subtests Allgemeines Wissen und Gemeinsamkeiten finden.

Bei Probanden mit dem T-Allel des SNPs rs11779795 konnte für das T-Allel eine statistisch signifikante Assoziation mit den Subskalen Wortschatztest und Gemeinsamkeiten finden nachgewiesen werden. T-Allel Träger erreichten signifikant höhere Werte im Verbal-Intelligenzquotienten. In Untersuchungen der Assoziation zwischen den Genotypen G/G, G/T und T/T zeigten Probanden mit dem Genotyp G/T

Zusammenfassung

tendenziell bessere Ergebnisse im Subtest Wortschatztest, Probanden mit dem Genotyp T/T hatten einen tendenziell höheren Verbal-Intelligentquotient.

Die vorliegende Studie weist somit auf eine Assoziation der untersuchten Polymorphismen des NEFL-Gens mit kognitiven Fähigkeiten hin. Ob das NEFL-Gen ein Suszeptibilitäts-gen der Intelligenz darstellt, kann jedoch ohne Replikation nicht abschließend beurteilt werden.

2 Einleitung

2.1 Intelligenz

2.1.1 Definitionen der Intelligenz

Für den aus dem lateinischen stammenden Begriff "intelligentia" (=Einsicht, Erkenntnisvermögen“, *intelligere* „einsehen, verstehen“) sind unterschiedliche Auslegungen in Gebrauch, und bis heute wurde keine einheitliche Definition festgelegt (Sternberg, 2004). Intelligenz lässt sich nicht als greifbares Objekt betrachten, sondern muss als hypothetisches Konstrukt gesehen werden (Myers, 2008a). Da Intelligenz für fast alle Lebensbereiche von Bedeutung ist, zählt sie gerade deshalb zu den besonders kontrovers diskutierten Konzepten (Funke & Vaterrodt-Plünnecke, 2004).

Binet & Simon (1905) die den ersten Test zur Feststellung des Intelligenzquotienten erarbeiteten, bezeichneten Intelligenz als „die Art der Bewältigung einer aktuellen Situation in der Urteilsvermögen, Verständnis und Denken zusammenspielen und gut eingesetzt werden können“. Wechsler (1964) definierte die Intelligenz als „zusammengesetzte oder globale Fähigkeit des Individuums, zielgerichtet zu handeln, rational zu denken und sich wirkungsvoll mit seiner Umwelt auseinander zu setzen“ (Wechsler, 1964). Weitere Definitionen der Intelligenz sind in Tabelle 2-1 dargestellt.

Zusammenfassend begreift sich die Intelligenz als eine sehr allgemeine geistige Fähigkeit, die unter anderem die Fähigkeit zum schlussfolgernden- sowie zum abstrakten Denken, zum Planen, zum Problemlösen, zum Verstehen komplexer Ideen, zum raschen Auffassen und zum Lernen einschließt (Gerrig & Zimbardo, 2008).

Einleitung

Tab 2-1: Intelligenzdefinitionen

Stern	1912	„Intelligenz ist die allgemeine Fähigkeit eines Individuums, sein Denken bewusst auf neue Forderungen einzustellen, sie ist die allgemeine geistige Anpassungsfähigkeit an neue Aufgaben und Bedingungen des Lebens“.
Terman	1916	“Ein Individuum ist insoweit intelligent, als es abstrakt zu denken vermag”.
Boring	1923	„Intelligenz ist, was Intelligenztests messen“.
Thurstone	1924	„Intelligenz als geistiges Merkmal, ist die Fähigkeit, Impulse in ihrer ersten, noch nicht abgeschlossenen Phase der Bildung zu fokussieren. Intelligenz ist daher die Fähigkeit zur Abstraktion, was einen inhibitorischen Prozess darstellt“.
Hofstätter	1957	„Intelligenz ist die den innerhalb einer Kultur Erfolgreichen gemeinsame Fähigkeit“.
Wenzl	1957	„Intelligenz ist die Fähigkeit zur Erfassung und Herstellung von Bedeutungen, Beziehungen und Sinneszusammenhängen“.
Rohracher	1971	„Intelligenz ist der interindividuell verschiedene Leistungsgrad der psychischen Funktionen bei der Lösung neuer Probleme“
Sternberg	1985	„Intelligenz bedeutet Lernen aus Erfahrung und abstraktes Schlussfolgern sowie die Fähigkeit, sich einer ständig weiterentwickelnden und verändernden Umwelt anzupassen und die Motivation, neues Wissen bzw. Fertigkeiten zu erlangen“.
Stern & Guthke,	2001	„Intelligenz kann als Potential eines Menschen verstanden werden, Lern- und Bildungsangebote zur Aneignung von Wissen zu nutzen“.
Zimbardo & Gerrig	2004	„Intelligenz umfasst die Fähigkeiten zur Anpassung an neue Situationen und sich verändernde Anforderungen, zum Lernen und zur optimalen Nutzung von Erfahrung oder Übung, zum abstrakten Denken und Gebrauch von Symbolen und Begriffen“.

Einleitung

Ein weiterer Begriff, der eng in Zusammenhang mit Intelligenz steht, ist die Kognition (lat. *cognoscere*: „erkennen, erfahren, kennen lernen“). Kognition vereint höhere geistige Prozesse wie z. B. Sprache, Aufmerksamkeit und Gedächtnis, die Intelligenz ist dabei als einer der zentralen Bausteine zu sehen (Abbildung 2-1).

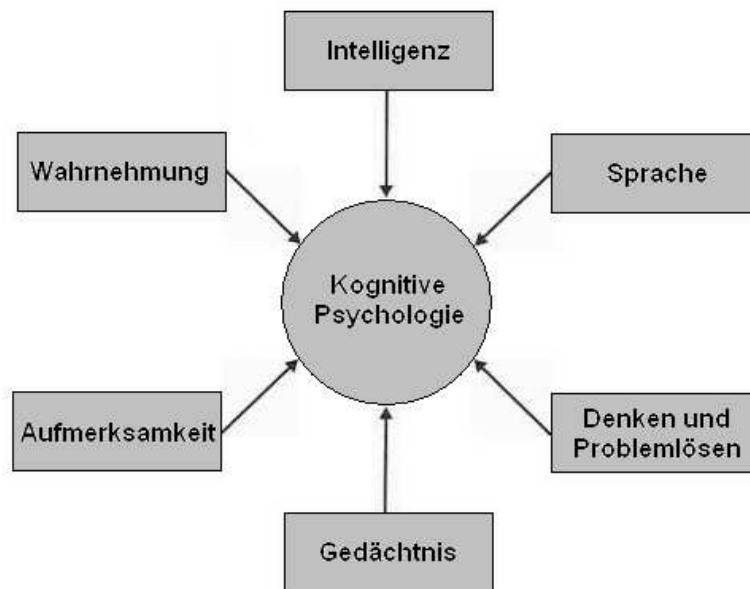


Abb. 2-1: Kognitive Psychologie (Zimbardo & Gerrig, 2008).

2.1.2 Strukturmodelle der Intelligenz

Mit den Ideen und Versuchen Intelligenz zu definieren und zu testen entwickelten sich ab dem 19. Jahrhundert multiple Intelligenzmodelle von denen im Folgenden die wichtigsten dargestellt werden.

Pionier der Entwicklung westlicher Intelligenztheorien war Sir Francis Galton. Er begann 1882 im *Museum of London* einfache kognitive Funktionen wie visuelle und auditive Fähigkeiten und Reaktionszeit an Freiwilligen zu testen (Galton, 1883). Schon 1869 demonstrierte er in seiner Publikation *Hereditary Genius*, dass die Kinder von Genies ebenfalls dazu neigen, Genies zu werden, 1883 beschrieb er in *Inquiries into Human Faculty and its Development* erstmals die Untersuchung identischer Zwillinge in Bezug auf die Intelligenz, eine Methode, die bis heute als ideal gilt, um die Einflüsse von Natur versus Milieu zu erforschen (Roth, 1998).

Alfred Binet zweifelte an Galtons Fokus auf elementare kognitive Funktionen. Er entwickelte einen ersten Test zur Beurteilung entwicklungsverzögerter Kinder (Binet, 1905) und kam zu der Überzeugung, dass Intelligenz eine ganzheitliche und komplexe Fähigkeit sein musste.

Aus Galtons und Binets Anfängen der Intelligenzmessung entwickelten sich multiple Intelligenzmodelle, die sich grob in hierarchische und nicht hierarchische Modelle einteilen lassen (Roth, 1998) (Tab. 2-2).

Tab.2-2: Intelligenzstrukturmodelle

Hierarchische Modelle	
2- Faktoren Theorie von Spearman	1927
Modell der fluiden und kristallinen Intelligenz von Cattell	1941
Strukturmodell der allgemeinen Intelligenz von Wechsler	1964
Berliner Intelligenzstrukturmodell von Jäger	1967,1982
Triarchisches Modell von Sternberg	1999
Drei Schichten- Modell der Intelligenz von Carroll	1993, 2003
Nicht hierarchische, multifaktorielle Modelle	
Mehrfaktorentheorie von Thurstone	1938
Intelligenzstrukturmodell von Guilford	1961
Modell der multiplen Intelligenzen von Gardner	1983,2002

2.1.2.1 Historische Intelligenzmodelle

Die 2 Faktoren-Theorien von Spearman

Charles Spearman entwickelte, beeinflusst von Galtons Experimenten, einen mathematisch analytischen Test zur Erfassung von Leistungen in verschiedenen kognitiven Aufgaben. Er konnte zeigen, dass Leistungen verschiedener Personen in jeweils verschiedenen Tests hoch miteinander korrelieren (Spearman, 1904). Auf diesen Ergebnissen basierend, postulierte er die Existenz eines konstanten Generalfaktors der Intelligenz (g), auf welchem jede Intelligenzleistung basiert, sowie einen spezifischen Faktor (s), der je nach Schwerpunkt des Testes variiert.

Spearman's Zwei-Faktoren-Theorie wurde nicht nur wegen ihrer Einfachheit, sondern auch aufgrund der Plausibilität allgemein bekannt und auch heute liegt die Vorstellung eines g-Faktors noch vielen Intelligenzdiagnostiken zugrunde (Amelang & Bartussek, 2006).

Modell der fluiden und kristallinen Intelligenz von Raymond Cattell

Cattell entwickelte eine weitere einflussreiche Modelldarstellung der Intelligenz. Er nahm an, dass der von Spearman postulierte g-Faktor aus zwei unabhängigen generellen Komponenten besteht, die sich auf einer übergeordneten Ebene befinden. Auf erster Ebene befinden sich miteinander korrelierende Primärfaktoren, die auf Leistungen in verschiedenen Tests basieren (Holling et al., 2004). Cattells Modell kann somit als eine Synthese aus der Zwei-Faktoren-Theorie und dem Modell gemeinsamer Faktoren angesehen werden (Amelang & Bartussek, 2006).

Die zwei generellen Komponenten bestehen aus der sogenannten fluiden Intelligenz (gf), welche die Fähigkeit widerspiegelt sich neuen Problemen oder Situationen anzupassen, ohne auf frühere Lernerfahrungen zurückzugreifen (Amelang & Bartussek, 2006) und der kristallinen Intelligenz (gc), die Kultur-, erfahrungs- und schulgebundenes-, im Laufe des Lebens angeeignetes Wissen und Denken widerspiegelt und als Endprodukt investierter fluiden Intelligenz angesehen werden kann (Friedman & Schustack, 2004).

Die fluide Intelligenz scheint größtenteils von Geburt an angelegt zu sein und bleibt von gesellschaftlichen und kulturellen Einflüssen weitgehend unbeeinflusst (Holling et al., 2004). Die fluide Intelligenz verarbeitet neue Informationen und kann mit Tests gemessen werden, die logisches Schlussfolgern erfordern. Die kristalline Intelligenz beschäftigt sich mit der Verarbeitung vertrauter Informationen und Wissensanwendung und kann mit Wortschatztests, Rechentests und Allgemeinwissenstests gemessen werden.

Die Mehrfaktorentheorien von Louis L. Thurstone

Mit Thurstone begann die Entwicklung einer Vielzahl unterschiedlicher Intelligenzfaktoren und die Abwendung von einem einheitlichen Konzept in der

Einleitung

Tradition Spearmans (Friedman & Schustack, 2004). Thurstone entwickelte eine Methode zur Analyse von multiplen unabhängigen Faktoren, die in einer Matrix korrelieren (Thurstone & Thurstone, 1941). Seinen Probanden wurden 56 verschiedene Tests vorgelegt, anschließend wurden sieben Cluster primärer geistiger Fähigkeiten abgeleitet. Diese bestanden aus:

- Wortflüssigkeit
- Wort- und Sprachverständnis
- Rechenfertigkeit
- Schlussfolgerndes Denken
- Auffassungsgabe
- Räumliches Vorstellungsvermögen
- Gedächtnis

Für diese sieben Grundfaktoren wurden Tests geschaffen die zeigen sollten, dass die Leistungen in einem bestimmten Bereich durch nur wenige Faktoren bedingt sind (Roth, 1998).

Das morphologische Modell vom Guilford

Auch Guilford machte sich die Faktorenanalyse zunutze. Er entwickelte ein Intelligenzstrukturmodell das drei Eigenschaften von Intelligenzaufgaben hervorhebt:

Inhalt = Art der Information

Produkt = Form in der die Information repräsentiert wird

Operation= Art der ausgeführten geistigen Tätigkeit

Wie aus Abbildung 2-2 ersichtlich, existieren fünf verschiedene Inhalte, sechs unterschiedliche Produkte und fünf Arten von Operationen. Anhand der beteiligten Inhalte, Produkte und Operationen kann jeder Informationsverarbeitungsprozess identifiziert werden (Gerrig & Zimbardo, 2008). Jede Kombination aus Inhalt, Produkt

Einleitung

und Operation heißt jeder einzelne der 120 bestehenden kleinen Würfel des Gesamtmodells, entspricht je einem unabhängigen Intelligenzfaktor und kann in einem spezifischen Test geprüft werden (Roth, 1998).

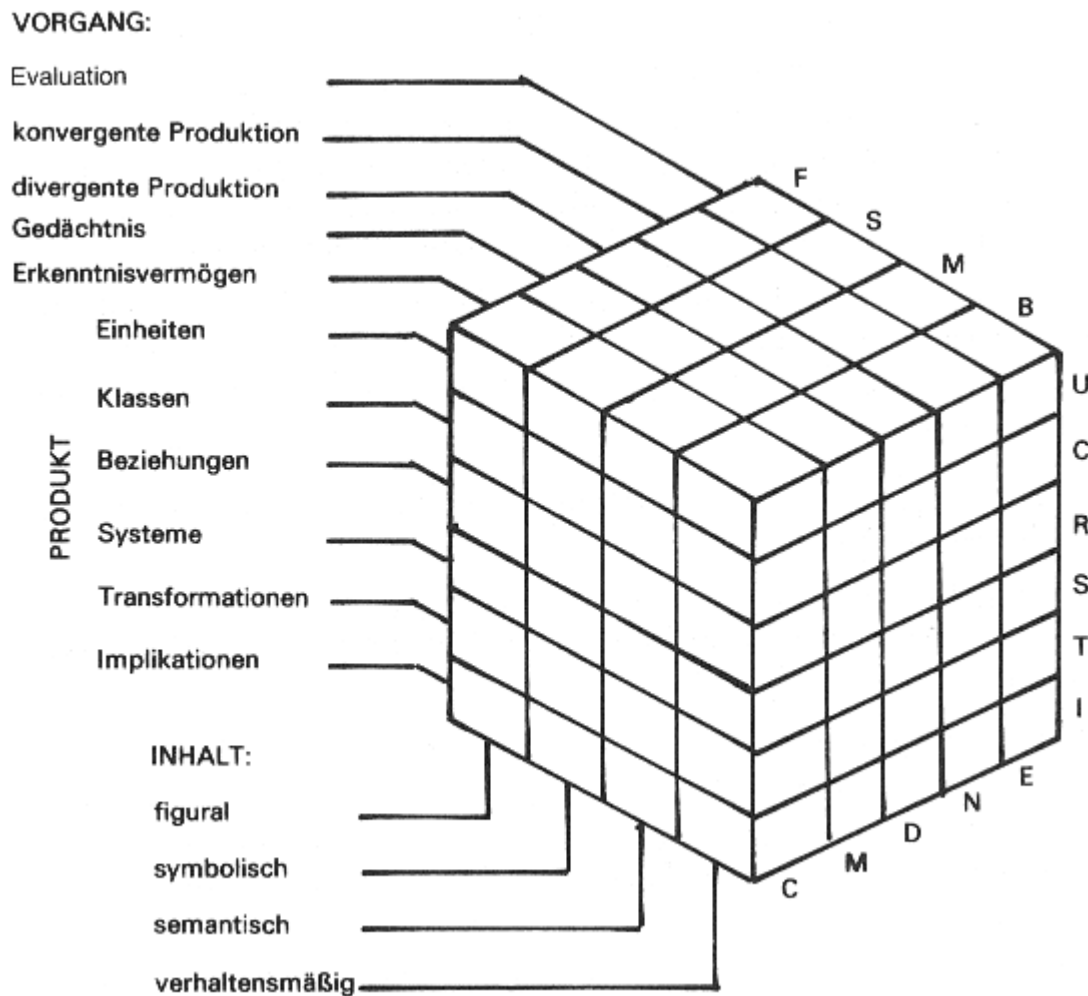


Abb. 2-2: Intelligenzstruktur-Modell nach Guilford (Amelang & Bartussek 2006).

Hierarchisches Strukturmodell der allgemeinen Intelligenz von Wechsler

Wechsler betrachtete Intelligenz, im Gegensatz zu Spearman, weniger als eine Ursache, sondern als einen Effekt, bei dem nicht intellektuelle Faktoren wie z. B. Charaktereigenschaften durch die Entwicklung der individuellen Intelligenz beeinflusst werden (Wechsler, 1964). Er entwickelte ein aus drei Ebenen

bestehendes hierarchisches Strukturmodell. Die allgemeine Intelligenz (g), definiert als generelle kognitive Fähigkeit, steht an der Spitze (Toga & Thompson, 2005) und wird in einen Verbal-IQ und einen Handlungs-IQ aufgeteilt. Beide Teilbereiche setzen sich wiederum aus mehreren ihnen untergeordneten Fähigkeiten oder Faktoren zusammen (Tewes, 1994). Abbildung 2-3 zeigt Wechslers Intelligenzmodell.

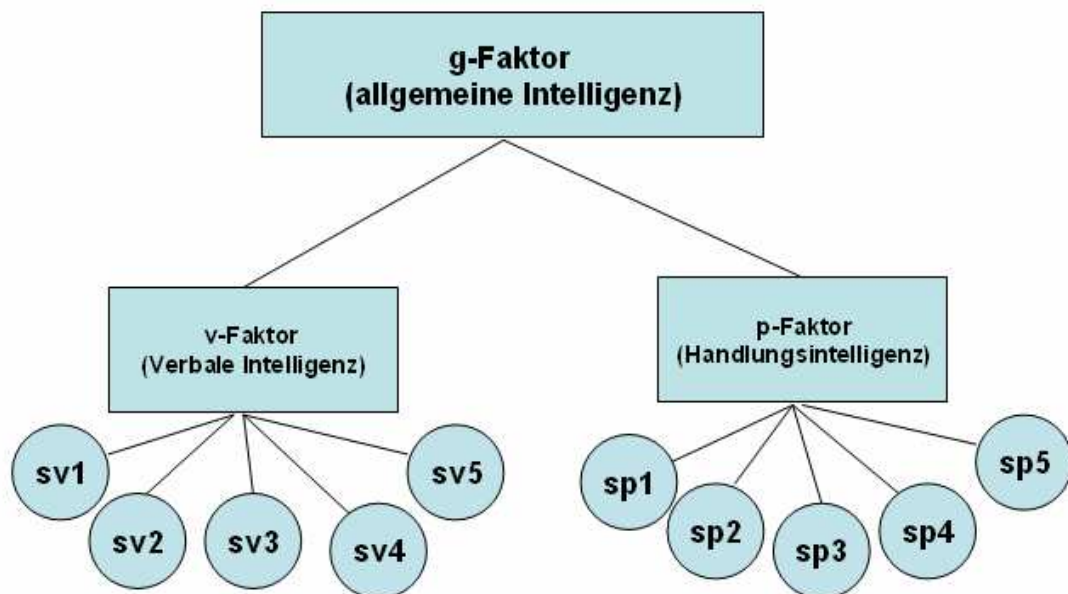


Abb.2-3: Das Intelligenzstrukturmodell von Wechsler (Fay & Stumpf, 1999).

2.1.2.2 Moderne Intelligenztheorien

Kognitionspsychologische Begabungskonzepte

Seit Mitte der 80er Jahre wurde versucht, die bisherigen Definitionen der Intelligenz zu erweitern (Myers, 2008a). In der Folge entstanden in den letzten zwei Jahrzehnten weitere, aktuelle Intelligenzstrukturmodelle.

Das Berliner Intelligenzstrukturmodell von Jäger

Jägers erste Entwürfe zu einem Intelligenzstrukturmodell wurden zum Berliner Modell weiterentwickelt (Jäger, 1984). Es vereinigt, unter Berücksichtigung allgemeiner Erkenntnisse der Intelligenzforschung, Elemente der Theorien von Spearman, Thurstone und Guilford. Mittels Katalogisierung aller in der Literatur zur Intelligenzmessung auffindbaren Aufgabenarten und folgender lexikalischer Sichtung sogenannter *Traits* (abstrakte Theorien für konkret beobachtbare Verhaltensweisen) wurden die zwei Modalitäten Operation und Inhalt festgelegt: Die Operations- bzw. Leistungsklasse beinhaltet Einfallsreichtum, Bearbeitungsgeschwindigkeit, Gedächtnis und Verarbeitungskapazität. Die Inhaltsklassen werden mit den Kategorien verbal, numerisch und figural bezeichnet (Amelang & Bartussek, 2006). Operationen werden mit Inhalten gekreuzt, jede Einzelkomponente wird durch einen Haupt-, Operations- und einen Inhaltsfaktor bestimmt, in geringerer Ausprägung sind auch andere Operationen und Inhalte beteiligt. Ein als allgemeine Intelligenz bezeichneter g-Faktor, ist dem Model als nicht weiter differenzierbare Einheit übergeordnet (Friedman & Schustack, 2004).

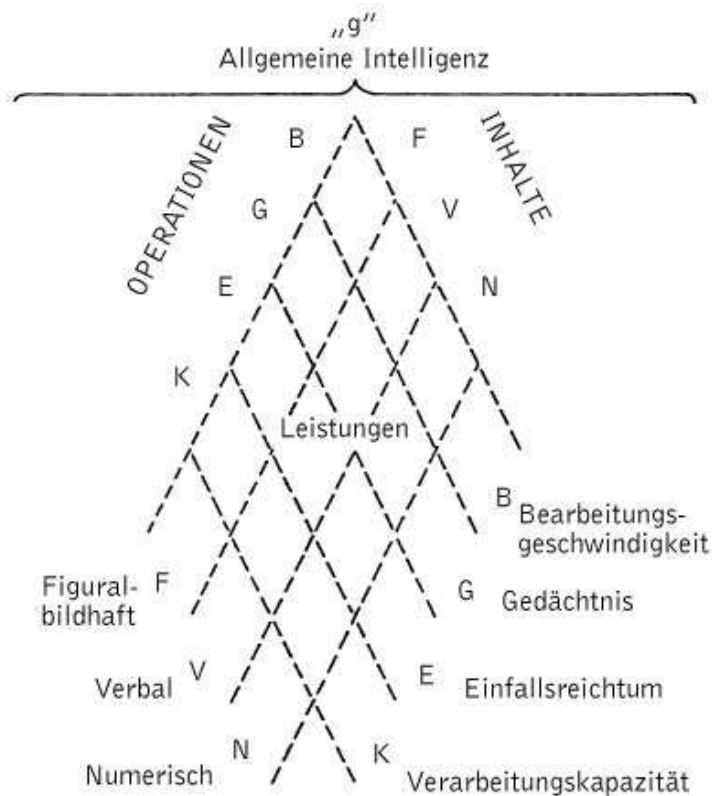


Abb.2-4: Das Berliner Intelligenzstrukturmodell (Jäger et al., 1997).

Howard Gardner: Multiple Intelligenzen

Auch Gardner unterstütze Thurstones Theorie der einzelnen Intelligenzfaktoren. Seine Untersuchungen an Unfallopfern mit Hirnverletzungen, die einen Teilverlust kognitiver Fähigkeiten erlitten hatten, zeigten, dass bestimmte Fähigkeiten eingeschränkt sein können, andere aber unberührt bleiben (Myers, 2008a).

Weiter brachte er Intelligenz mit Gesellschaft und Kultur in Zusammenhang. Er identifizierte zahlreiche Intelligenzen, die menschliche Erfahrungsbereiche abdecken. Je nach Gebrauch und Nützlichkeit wird ein Erfahrungsbereich und eine spezielle Fähigkeit in einer Gesellschaft mehr oder weniger wertgeschätzt (Gardner, 1993).

Gardner propagierte eine Theorie der acht Intelligenzfaktoren, die relativ unabhängig voneinander sind:

Tab 1-3: Gardners 8 Intelligenzfaktoren

Logisch-mathematisch	Formal-logische und mathematische Denkfähigkeit
Linguistisch	Gespür für Laute, Rhythmen, Wortbedeutung, Sprachfunktion
Naturalistisch	Sensitivität im Umgang mit Lebewesen, Wertschätzung verschiedener Spezies
Musikalisch	Gespür für Rhythmen, Klänge, Tonhöhen, Wertschätzung musikalischer Ausdrucksformen
Räumlich	Fähigkeit zu akkurater Raumwahrnehmung und Raumvorstellung
Kinästhetisch	psychomotorische Fähigkeiten, geschickt im Umgang mit Objekten
Interpersonal	differenzierte Wahrnehmung von Charaktereigenschaften, Stimmungen und Motiven anderer und Fähigkeit angemessener Reaktion
Intrapersonal	Sensibilität gegenüber der eigenen Empfindungswelt

Die Diagnostik verlangt neben der Durchführung von Standardtests die Beobachtung eines Einzelnen in einer Vielzahl von Lebenssituationen (Gerrig & Zimbardo, 2008).

Die triarchische Intelligenztheorie von Sternberg

Sternberg stimmt im Grundsatz mit Gardners Theorie der multiplen Intelligenzen überein, legt aber im Rahmen seiner allgemeinen Intelligenzforschungsarbeiten zunehmend Augenmerk auf die Bedeutung kognitiver Prozesse, die bei der Problemlösung involviert werden (Sternberg & Davidson, 2005).

1984 postuliert Sternberg seine triarchische Intelligenztheorie, die aus drei interagierenden Aspekten der Intelligenz besteht: Komponentielle, erfahrungsbasierte und kontextuelle Intelligenz stellen jeweils unterschiedliche Wege zur Leistungscharakterisierung dar (Sternberg, 1985).

Die komponentielle Intelligenz stellt den sogenannten internen Aspekt dar, und beschreibt die Informationsverarbeitungsfähigkeit einer Person.

Die erfahrungsbasierte Intelligenz beschreibt die Fähigkeit neue Probleme zu lösen und die dazu notwendigen internen Aspekte zu automatisieren (Holling et al., 2004).

Die kontextuelle Intelligenz bzw. der externe Aspekt stellt die praktische Anwendung des Internen Aspekts dar. Er spiegelt eine praktische Intelligenz wider und umfasst die Fähigkeit sich neuen oder veränderten Umständen anzupassen, geeignete Umstände zu identifizieren und die Umwelt bedürfnisgerecht zu gestalten (Gerrig & Zimbardo, 2008).

Sternberg definiert Intelligenz als „die Fähigkeit aus Erfahrungen zu lernen und sich an die Umgebung anzupassen“. Seine Definition kann jedoch mit heute bekannten Intelligenztests nicht erfasst werden und stellt vielmehr eine Ergänzung zu den vorhandenen Intelligenzstrukturmodellen dar (Holling et al., 2004).

Das Drei-Schichten-Modell der Intelligenz von John Carroll

Wie schon Jäger, reanalysierte auch Carroll eine große Anzahl an Datensätzen aus einem Pool von bis dahin in der Intelligenzforschung angewendeten, sehr unterschiedlichen Tests und Aufgabentypen. Mittels Faktorenanalyse entwickelte er ein Intelligenzmodell mit drei Hierarchieebenen (Stratum III, II, I) (Friedman & Schustack, 2004).

Stratum III bezeichnet die allgemeine Intelligenz, die auf der Ebene höchster Generalität durch komplexe kognitive Prozesse höherer Ordnung bestimmt wird. Sie liegt allen intellektuellen Aktivitäten zu Grunde.

Stratum II beinhaltet acht Fähigkeiten mittlerer Generalität (fluide Intelligenz, kristalline Intelligenz, allgemeine Gedächtnisfähigkeit, visuelle Wahrnehmung, auditive Wahrnehmung, Abruffähigkeit, kognitive Geschwindigkeit und Verarbeitungsgeschwindigkeit).

Stratum I beinhaltet 69 Ausdifferenzierungen der in Stratum II verankerten Fähigkeiten. Sie stellen Mischformen aus den übergeordneten Fähigkeiten dar.

Carrolls Modell erweitert die schon bestehenden Strukturmodelle und lässt eine Anordnung für die Mehrheit aller bisher erforschten kognitiven Fähigkeiten zu (Holling et al., 2004).

2.1.3 Intelligenzmessung

Während bereits Platon in seiner Schrift „Der Staat“ beschrieb, wie Regierungsämter an eine Auswahl der Besten zu vergeben seien (Sternberg, 2004) und es auch in China schon vor über 4000 Jahren diagnostische Verfahren zur Beurteilung der Kompetenz von Beamten gab, sind in der westlichen Psychologie erstmals im 19. Jahrhundert Methoden und Verfahren zur Feststellung der Intelligenz bekannt geworden, eine weite Verbreitung ist erst im 20. Jahrhundert festzustellen (Gerrig & Zimbardo, 2008).

Galton erkannte die Bedeutung statistischer Vergleiche und machte sie für die Testentwicklung nutzbar (Heller, 2000). Erste Hypothesen zur Normalverteilung intellektueller Fähigkeiten sowie deren erblicher Grundlage wurden von Galton 1869 veröffentlicht und übten beachtlichen Einfluss auf spätere Ideen zu Theorien und Methoden der Intelligenztestung aus (Galton, 1869). Zeitnah gründete Wilhelm Wundt das erste physiologische Laboratorium und wandte erstmals Messverfahren zur Erfassung physiologischer Maße an (Amelang & Bartussek, 2006).

Binet kritisierte den alleinigen Fokus auf elementare kognitive Funktionen; er legte Schwerpunkte auf die Erfassung von einzelnen Modalitäten wie Gedächtnisleistung,

Einleitung

Vorstellungskraft, Verständnis und Aufmerksamkeit und kam zu der Überzeugung, dass Intelligenz eine ganzheitliche und komplexe Fähigkeit sein muss (Binet, 1895).

1904 bot sich Binet und sein Kollege Theophile Simon die Möglichkeit, sein Verfahren an französischen Schulkindern auf breiter Basis einzusetzen und zu prüfen. Schon 1905 präsentierten Binet & Simon einen ersten Test zur Beurteilung der Intelligenzleistung bei Kindern.

Binet entwickelte Aufgaben, die objektiv als richtig oder falsch gewertet werden konnten, die die Fähigkeit zu schlussfolgerndem Denken und nicht auswendig Gelerntem erfassten und die relativ unabhängig von den jeweiligen Lebensumständen waren. Er ging dabei davon aus, dass Kinder einer bestimmten Altersstufe und normaler Intelligenz, Aufgaben, die ihrer Alterstufe entsprechen, mit hoher Wahrscheinlichkeit lösen können

Das Durchschnittsergebnis für normale Kinder jeden Alters wurde berechnet, Leistungen eines Kindes wurden mit dem Durchschnitt gleichaltriger Kinder verglichen. Dieser Wert wurde als das Intelligenzalter (IA) bezeichnet, welches unabhängig vom Lebensalter (LA) betrachtet wurde. Wurden alterstypische Aufgaben nicht gelöst, wurde die Anzahl der nicht gelösten Aufgaben als Monate vom Lebensalter abgezogen ($\text{Intelligenzalter} < \text{Lebensalter}$), wurden zusätzlich Aufgaben gelöst, wurden diese als Monate zum Lebensalter hinzugezählt ($\text{Intelligenzalter} > \text{Lebensalter}$) (Binet & Simon, 1904).

Ein kritischer Nachteil war der Umstand, dass bei Binets Test kein Unterschied in den Differenzen zwischen Intelligenzalter und Lebensalter in Bezug auf verschiedene Lebensstufen gemacht wurde. So ist z. B. im Alter von zehn Jahren eine Differenz von zwei IA-Monaten zu vernachlässigen, während dieselbe Differenz im Alter von vier Jahren auf eine bedeutende Intelligenzminderung hinweisen kann.

Um diese Verzerrung zu umgehen entwickelte William Stern den heute noch gebräuchlichen Intelligenzquotienten, der aus dem Intelligenzalter proportional zum Lebensalter, multipliziert mit 100 berechnet wird: $\text{IQ} = \text{IA} / \text{LA} \times 100$ (Stern, 1911). Damit war zwar eine gewisse Interpretierbarkeit der Testergebnisse bei Kindern gewährleistet, allerdings lies sich dieser Quotient bei Erwachsenen nicht anwenden, da die Leistungszunahme linear sein müsste, was jedoch mit fortschreitendem Alter nicht mehr gewährleistet werden kann (Amelang & Bartussek, 2006).

Ungeachtet dieser Problematik verbreitete sich Binets Testverfahren sowie der Begriff Intelligenzquotient rasch. Luis Terman veröffentlichte 1916 eine revidierte Form des Binet Tests, der nun Normen für verschiedene Altersstufen von Kindern enthielt. Dieser neue Stanford-Binet-Test wurde schnell Standard in Schule, klinischer Psychologie und Psychiatrie. Mit zusätzlich verbesserten Normen für altersbezogene Durchschnittswerte ließen sich später auch Intelligenzleistungen durchschnittlich intelligenter Erwachsener sowie Hochbegabter und Intelligenzgeminderter messen (Gerrig & Zimbardo, 2008).

Die Wechsler Intelligenzskalen

Mit David Wechslers Entwicklung eines sogenannten Abweichungsquotienten (1939, deutsch: 1964) wurden effektive Normierungsverfahren eingeführt, die bis heute allgemein in Gebrauch sind. Der Abweichungsquotient basiert auf dem empirischen Befund der Leistungsstreuung, einer für die Testperson repräsentativen Altersgruppe um einen Durchschnittswert. Der individuelle Wert einer bestimmten Testperson wird als Differenz zu diesem Durchschnittswert ausgedrückt, zusätzlich werden die altersbedingten Streuungsverhältnisse berücksichtigt. Dabei wird davon ausgegangen, dass die Intelligenz in der Bevölkerung normal verteilt ist und die Verteilung der Messwerte der Gauß-Verteilung entspricht (Wechsler, 1964).

Bei den meisten heute verwendeten standardisierten IQ-Tests liegt der Durchschnitts-Intelligenzquotient bei 100, mit einer Standardabweichung (s) von 15. Rund 68% der Bevölkerung liegen bei einem IQ zwischen 85 und 115 (Tewes, 1994).

Der Abweichungs-IQ wird folgendermaßen errechnet:

$$\text{Abweichungs-IQ} = 100 + s (X - M / \sigma).$$

Dabei entspricht (X) dem individuellem Rohwert, (M) dem empirischem Mittelwert der altersspezifischen Rohwertverteilung, σ entspricht der empirischen Standardabweichung der altersspezifischen Rohwertverteilung. Bei der Beurteilung von sehr hohen bzw. sehr niedrigen IQ-Werten muss beachtet werden, dass die Größe des Messfehlers mit der Entfernung zum Durchschnitt (100) steigt (Tewes, 1994).

Durch diese Normierung wird ein proportionaler Vergleich mit dem Lebensalter umgangen, dieser findet nur mit Testergebnissen multipler Individuen der gleichen Altersklasse statt (Amelang & Bartussek, 2006). Durch die Kombination von verbalen Untertests mit handlungsbezogenen Untertests kann neben dem allgemeinen IQ-Wert auch ein Verbal- und Handlungs-IQ angegeben werden (Wechsler, 1939).

2.2 Intelligenz und Genetik

2.2.1 Einflussfaktoren der Intelligenz

Die Frage inwieweit Intelligenzleistung von einerseits genetischen Faktoren abhängt und andererseits von externen Faktoren wie soziale Herkunft, Erziehung, Schulbildung oder Geschlecht beeinflusst wird, ist Gegenstand aktueller Forschung. Mit Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien konnte belegt werden, dass:

- ca. 50% der Varianz in allgemeinen kognitiven Fähigkeiten genetisch bedingt sind (Deary et al., 2006; Houlihan et al., 2009; Plomin et al., 2001).
- die Heritabilität des allgemeinen Intelligenzfaktors (g) zwischen 30% und 80% liegt und von der Kindheit, in der Umweltfaktoren größeren Einfluss zeigen, bis ins Seniorenalter, in dem Umwelteinflüsse nahezu nicht mehr tangieren (Bergen et al., 2007; Bouchard, 1998), annähernd linear ansteigt (Bouchard & McGue, 2003; Deary et al., 2009; Devlin et al., 1997; Gallardo Pujol et al., 2007; Haworth et al., 2009; Plomin & Spinath, 2004; Polderman et al., 2006).
- die genetische Komponente des Arbeitsgedächtnis, welches ein System mit limitierter Funktion zur gleichzeitigen Speicherung einer Information und Bearbeitung dieser oder einer anderen Information darstellt (Baddeley, 2001), zu 43% bis 49% beeinflusst (Ando et al., 2001).
- das Hirnvolumen positiv mit der allgemeinen Intelligenz (g) korreliert (Posthuma et al., 2002) und ca. 10% der Variabilität des Intelligenzquotienten der Bevölkerung beeinflusst (Gignac et al., 2003; Toga & Thompson, 2005). Dabei konnte gezeigt werden, dass Hirnvolumen und allgemeine Intelligenz (g) gemeinsame genetische Faktoren aufweisen (Posthuma et al., 2002).

2.2.1 Zusammenhang von Gehirnstrukturen, Arbeitsgedächtnis und Intelligenz

In vielen Studien konnte die Korrelation der Intelligenz mit verschiedenen Hirnstrukturen dargestellt werden (Amat et al., 2008; Choi et al., 2008; Toga & Thompson, 2005). Im Besonderen korreliert das Ausmaß der grauen Substanz mit dem allgemeinen Intelligenzfaktor (g) (Thompson et al., 2001; Toga & Thompson, 2005; Wright et al., 2002). Darauf basierende Untersuchungen konnten eine besonders signifikante Korrelation (37%-45%) der grauen Substanz des Frontallappens mit g nachweisen (Haier et al., 2004; Thompson et al., 2001). Der Frontallappen stellt den größten Anteil der Kapazität des Arbeitsgedächtnisses dar (Toga & Thompson, 2005). Die Leistung des Arbeitsgedächtnisses ist wiederum zu 13% bis 45% mit der Höhe des IQs assoziiert (Luciano et al., 2001; Thompson et al., 2001).

Weitere Studien verweisen aber auch auf eine Assoziation der Menge und Dichte grauer, sowie auch weißer Substanz mit g in vielen anderen Regionen (Orbitofrontaler Kortex (*Broadman Areal (BA) 10, 46, 9*), Parietal- (*BA 43 and 3*), Temporal- (*BA 21, 37, 22, 42*), und Okzipitallappen (*BA 19*), Cerebellum, Thalamus, Gyrus Cingulus) (Colom et al., 2006; Frangou et al., 2004; Narr et al., 2007). In Zwillingsstudien konnte ein gemeinsamer genetischer Ursprung der grauen wie auch Bereichen der weißen Substanz und g in oben genannten Regionen bestätigt werden (Chiang et al., 2009; Hulshoff Pol et al., 2006).

2.2.2. Familien-, Adoptions- und Zwillingsstudien

Familienstudien

In Familienstudien wird die Korrelation der Intelligenz bei gemeinsam lebenden Verwandten ersten Grades untersucht. Studien zeigen, dass der Anteil vererbter kognitiver Fähigkeiten stark von Charakteristika des persönlichen Umfelds wie zum Beispiel dem sozioökonomischen Status (Turkheimer et al., 2003), dem Bildungsgrad (Harden et al., 2007) und dem Einkommen der Eltern (Rowe et al., 1999), der Qualität der Eltern-Kind-Kommunikation und Strukturierung des internen sowie externen Umfelds abhängt (Asbury et al., 2005; Hart & Risley, 1995; Kagan, 1998).

Einleitung

Im Vergleich korrelieren IQ-Werte von Kindern, Geschwistern und Eltern stärker bei gemeinsamem Aufwachsen als beim Aufwachsen bei Verwandten (Bouchard et al., 1990). Stabile familiäre Verhältnisse reduzieren umweltbedingte IQ-Differenzen bei stärkerer Ausprägung genetisch bedingter individueller Differenzen (Bronfenbrenner & Ceci, 1994).

Aufbauend auf diese Ergebnisse konnten zwei weitere Studien über die Ergebnisse der Wechsler Intelligenz Skalen eine höhere Heritabilität bei 7 bzw. 17 jährigen Kindern aus Familien mit hohem sozioökonomischen Status (bezogen auf Einkommen, Bildung und Beruf der Eltern) darstellen. Die Varianz des genetischen Einflusses (h^2) lag in der Studie mit 7-jährigen bei 72%, während die Varianz gemeinsamer Umwelteinflüsse (c^2) bei 51% lag (Turkheimer et al., 2003). Im Vergleich lagen die Werte bei Kindern aus Familien mit ärmerem sozioökonomischen Status bei $h^2 = 10\%$ und $c^2 = 58\%$ (Turkheimer et al., 2003). Die vergleichbare Studie bei 17-jährigen Jugendlichen ergab Werte von $h^2 = 55\%$ und $c^2 = 35\%$ bei höherem sozioökonomischen Status, $h^2 = 39\%$ und $c^2 = 45\%$ bei Jugendlichen aus Familien mit niedrigerem sozioökonomischen Status (Harden et al., 2007).

Gemeinsame Umwelteinflüsse sind Umweltfaktoren, die von zusammen aufwachsenden geteilt werden (z.B. Erziehungsstil der Eltern, Nachbarschaftscharakteristika, Ehekonflikt). Sie sind Quelle phänotypischer Ähnlichkeit (Jones & Prinz, 2005; Lykken et al., 1992; Spotts et al., 2004). Dem gegenüber stehen Einflussfaktoren, die nicht geteilt werden (z.B. Peergroups, Zufallsbegegnungen). Sie sind für phänotypische Unterschiede verantwortlich (Turkheimer & Waldron, 2000).

Adoptionsstudien

Mit Adoptionsstudien lassen sich genetische und umweltbedingte Einflüsse auf kognitive Fähigkeiten getrennt untersuchen. Adoptivgeschwister sind gleichen Umweltfaktoren ausgesetzt, haben aber unterschiedliche Erbanlagen. Verschiedene Studien konnten zeigen, dass zusammen aufwachsende Adoptivgeschwister eine durchschnittliche IQ-Korrelation von 26% aufweisen; Tests an getrennt lebenden erwachsenen Adoptivgeschwistern zeigen hingegen nur noch eine durchschnittliche Korrelation von 4%. Daraus lässt sich schließen, dass durch gemeinsames

Einleitung

Aufwachsen erlangte Effekte wieder verloren gehen, sobald Adoptivgeschwister getrennt leben (Segal, 2000; Sherman et al., 1997).

Allerdings muss berücksichtigt werden, dass die genetische Komponente mit zunehmendem Alter steigt, während umweltfaktorielle Einflüsse zurückgehen (Bartels et al., 2002; McGue et al., 1993; Petrill, 2002; Plomin, 1986). Mit Hilfe der Studien von McGue und Lykken konnte in einer weiteren Studie eine signifikante Zunahme der Heritabilität pro Lebensjahr ($+0.012$, $t = .487$, $p < .0001$), bei gleichzeitig signifikanter Abnahme der geteilten Umweltfaktoren bezogen auf den IQ ($t = -3.63$, $p = .0014$) festgestellt werden (Bergen et al., 2007).

Zwillingsstudien

Klassische Zwillingsstudien vergleichen die Konkordanz monozygoter Zwillinge (MZ) mit dizygoten Zwillingen (DZ). Während MZ genetisch beinahe völlig identisch sind, teilen sich DZ im Durchschnitt 50% der Gene. Das Übermaß an Ähnlichkeit von MZ im Vergleich zu DZ ist demnach Resultat genetischer Faktoren (Evans et al., 2002; Mayo, 2009). Das zeigte sich auch in einer MRI-Studie bei der das Volumen grauer Substanz an MZ sowie DZ bestimmt wurde. MZ zeigten eine Korrelation des Volumens von 95%, bei DZ betrug die Korrelation 50% (Plomin & Kosslyn, 2001).

Verschiedene Studien zeigten bei zusammen aufgewachsenen MZ eine Korrelation von $g = 86\%$, getrennt aufgewachsenen MZ korrelierten bei $g = 68\%$ (Posthuma et al., 2002). Bei zusammen aufgewachsenen DZ zeigte sich eine Korrelation von $g = 60\%$. Wird die Differenz dieser Korrelationen verdoppelt, beträgt die Erblichkeitsschätzung 52% (Bouchard & McGue, 2003; Loehlin et al., 1989; Loehlin et al., 2007; Plomin & Kosslyn, 2001).

Der genetische Einfluss auf den IQ wird mit zunehmendem Alter stärker. Eine longitudinale Studie an 237 holländischen Zwillingspaaren zeigte eine Schätzung des genetischen Anteils der allgemeinen Intelligenz von 30% bei 5-jährigen und einem Anstieg auf 80% bei 12-jährigen. Kofaktoren wie Exekutivfunktionen zeigten in beiden Altersstufen eine Heritabilität von 50%, bei der Aufmerksamkeit zeigte sich eine Heritabilität von über 60% (Polderman et al., 2006).

In der bisher größten Zwillingsstudie wurden 11.000 Zwillingspaare aus 4 Ländern (Australien, Holland, England, USA) mit verschiedenen Tests auf kognitive

Einleitung

Fähigkeiten untersucht. Es zeigte sich eine signifikante, lineare Zunahme des allgemeinen Intelligenzfaktors. In der Kindheit (9 Jahre) konnte eine Heritabilität von 41%, im Jugendalter (12 Jahre) von 55% und im Erwachsenenalter (17 Jahre) von 66% festgestellt werden (Haworth et al., 2009). Genetische Analysen von Lernfähigkeiten wie Sprache, Lesen und Mathematik ergaben hohe Korrelationen von 80%. Damit kann auch auf eine Überschneidung einzelner Lernfähigkeiten hingewiesen werden. Weiter ergab sich eine genetische Korrelation zwischen kognitiven Fähigkeiten und Lernfähigkeiten von ca. 60% (Butcher, Kennedy & Plomin, 2006; Petrill, 2002).

Die Korrelation allgemeiner und spezifischer kognitiver Fähigkeiten wurde auch bei 80- und über 80-jährigen gleichgeschlechtlichen Zwillingspaaren überprüft. 110 MZ und 110 DZ zeigten eine durchschnittliche Heritabilität von $g = 62\%$ (McClearn et al., 1997). 2006 konnten die Ergebnisse von McClearn mit einer Studie, die 403 über 75-jährige Zwillingspaare kognitiv testete und eine Korrelation von 26-54% feststellte, bestätigt werden. Für Korrelationsdifferenzen konnten weder Alter noch Geschlecht oder unterschiedliche soziale Kontakte verantwortlich gemacht werden (McGue & Christensen, 2001).

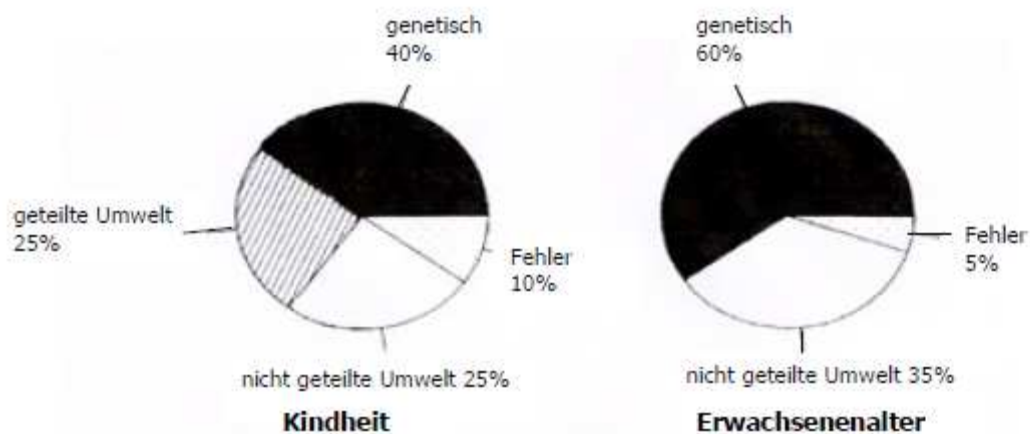


Abb. 2-5: Die Heritabilität des allgemeinen Intelligenzfaktors (g) über das Leben hinweg

2.3 Allgemeine Gesichtspunkte der Molekulargenetik

Das gesamte Genom der menschlichen Zelle, das zu 99,9% bei allen Menschen identisch ist, beinhaltet nach neustem Stand ca. 3.08 Milliarden Nukleotiden. Das Euchromatin besteht aus etwa 2.88 Milliarden Nukleotiden. Mehr als die Hälfte des Genoms stellen repetitive Sequenzen dar. Beachtenswert ist dabei der hohe Anteil an segmentalen Duplikationen. Bis vor kurzem wurde die Ansicht vertreten, dass sehr kleine Variationen in sonst universalen Sequenzen die genetische Basis für humane Differenzen darstellen. Mit der vollständigen Entschlüsselung des Genoms muss man aber davon ausgehen, dass nicht nur segmental fixierte Duplikationen, sondern interindividuelle Polymorphismen für die genetische Heterogenität verantwortlich sind.

Es existieren etwa drei Millionen Polymorphismen innerhalb der ca. drei Milliarden Nukleotide. Eine Besonderheit ist, dass das menschliche Genom nur 20.000-25.000 Protein-kodierende Gene zu beinhalten scheint. Daraus folgt, dass nur ca. 2% der DNA-Sequenz in Proteine umgesetzt werden. Diese liegen auf den Exons, die nur ca. 1,1% des Genoms darstellen. Fast alle Polymorphismen liegen auf Introns, die ca. 24% des Genoms darstellen oder auf anderen, nicht kodierenden DNA-Regionen (75% des Genoms) (Abdellah et al., 2004; Platzer, 2006; Plomin et al., 1999; Slagboom & Meulenbelt, 2002; Venter et al., 2001).

Die größte Polymorphismengruppe stellen die *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNP) dar. Als SNP wird eine Variationen von einzelnen Basenpaaren in einem DNA-Strang bezeichnet. SNPs stellen ca. 90% der Variation des menschlichen Genoms dar. Aktuelle Genotypisierungen zeigen, dass durchschnittlich 80% der afrikanischen Population und bis zu 95% nicht afrikanischer Population gemeinsame SNPs aufweisen. 10-30% einer Population zeigen mindestens eine Region mit vererbter erweiterter genetischer Identität (Frazer et al., 2007). Die Häufigkeit einer Variation bei verschiedenen ethnischen Gruppen ist heterogen (Serpia et al, 2005), es wird vermutet, dass in der weltweiten Population ungefähr 6-11 Millionen SNPs die genetische Variabilität charakterisieren (Cichon, 2002; Goldberg & Weinberger, 2004; Propping, 2004). Viele dieser SNPs sind bereits identifiziert und können genauen chromosomalen Regionen zugeordnet werden (Frazer et al., 2007; *A haplotype map of the human genome*, 2005).

Einleitung

Die Variante einer Nukleotidsequenz auf einem Chromosom des Genoms wird als Haplotyp bezeichnet. Die dabei verglichenen Allele können individuelle Kombinationen von SNPs sein, die als genetische Marker benutzt werden. Ein bestimmter Haplotyp kann individuen-, populations- oder auch artspezifisch sein (Guttmacher & Collins, 2002; *The International HapMap Project*, 2003; Li et al., 2005).

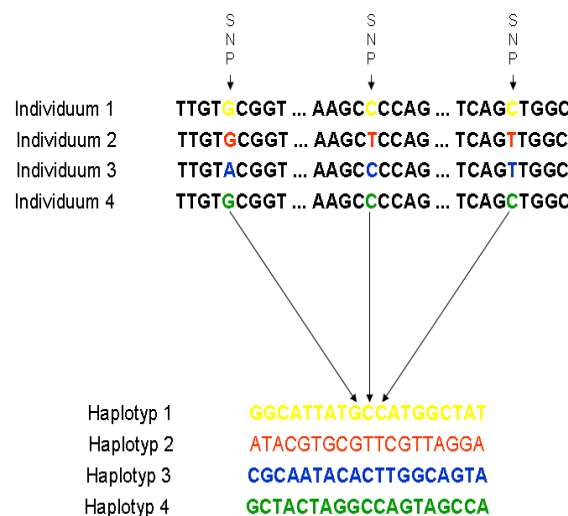


Abb.2-6: 4 Haplotypen durch Vergleich von SNPs aus Chromosomenabschnitten von vier Individuen. ("The International HapMap Project, 2003).

Einen weiteren Marker des menschlichen Genoms stellen *Quantitative Trait Loci* (QTL) dar. Sie bezeichnen spezifische DNA-Polymorphismen eines Chromosoms, für die eine Assoziation mit einem quantitativen, phänotypischen Merkmal nachgewiesen werden kann (Camp & Cox, 2002). Sie spielen auch eine Rolle bei der Heritabilität der Intelligenz. Zur Identifikation von mit Intelligenz assoziierten QTLs werden Genmarker mit hohem Polymorphismusgrad benötigt. Aus der Markerdichte eines bestimmten chromosomalen Abschnitts ergibt sich die Größe der QTL, was wiederum der Anzahl bestimmter Kandidatengene auf diesem Abschnitt entspricht (Craig & Plomin, 2006). Um eventuelle Kandidatengene genauer identifizieren zu können, wird sich unter anderem mit sogenannten Kopplungs- und Assoziationsstudien beholfen.

2.3.1 Kopplungsstudien (Linkage-Studien)

In Kopplungsstudien wird die Heritabilität eines DNA-Markers (Sequenzvariation der genomischen DNA) bzw. dessen Veränderung innerhalb Verwandten ersten Grades untersucht. Weist ein bestimmter Marker keinen Bezug zu einem phänotypischen Merkmal auf, wird von einer zufälligen Vererbung zwischen Elternteil und Kind von 50% ausgegangen. Ergibt sich eine höhere Dichte eines Markers auf einem bestimmten Genabschnitt weicht die Häufigkeit konkordanter Eltern-Kind-Kombinationen von den aus Zufall resultierenden 50% ab. Dies wird als Vererbungsungleichgewicht bezeichnet (Transmission disequilibrium) (Camp & Farnham, 2001; Vink & Boomsma, 2002).

In einer Kopplungsstudie bezüglich der Variabilität des IQs wurden 643 Geschwisterpaare australischen oder niederländischen Ursprungs untersucht. Mit dem Ziel Regionen zu finden, die mit kognitiven Fähigkeiten assoziiert sind, wurden die Probanden in einem genomweiten Scan genotypisiert sowie mit dem WAIS auf kognitive Fähigkeiten getestet. Signifikante Regionen zeigten sich bei 6q25.3-6q22.3 und 2q24.1-2q31.1 (Posthuma et al., 2005).

Eine weitere Studie untersuchte 361 Familien mit 2 bis 5 Geschwisterkindern. Von 81% der Eltern lag eine Genotypisierung vor. Eine signifikante Kopplung konnte bei zwei Tests (*Cambridge Reading Test und Performance IQ*) auf Chromosom 2 gezeigt werden. Auch auf Chromosom 6, 7, 11, 14, 21 und 22 deutete sich eine Kopplung an (Luciano et al., 2006).

2.3.2 Assoziationsstudien

Assoziationsstudien basieren in der Regel auf experimentellen Erkenntnissen eines mit einem bestimmten Merkmal assoziierten Gens (=Kandidatengen). Polymorphismen dieser Gene verändern im Idealfall die Genfunktion und lassen so eine Assoziation mit der Entwicklung einer bestimmten Krankheit vermuten. Hypothesen dieser Art lassen sich durch Überprüfung der Frequenz einer bestimmten genetischen Variation in einer Patientenstichprobe im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe überprüfen (Papassotiropoulos et al., 2006). Kommt ein spezifischer DNA-SNP einer Population häufiger bei dem untersuchten Phänotyp vor, wird dies als Assoziation bezeichnet.

Bezüglich Intelligenz zeigen Assoziationsstudien den Zusammenhang zwischen genetischen Variationen und einem Phänotyp. Eine Assoziation zwischen Allel und Erscheinungsbild besteht, wenn die einzelne Variante der untersuchten Sequenz (Allel) mit der Variation bei einem quantitativen Phänotyp, der dem IQ-Test entspricht, statistisch signifikant assoziiert ist (Goldberg & Weinberger, 2004).

In einer Londoner Studie wurden 7000 7-jährige Kinder, eingeteilt in eine Gruppe mit hohem g und eine Gruppe mit niedrigem g, auf QTLs untersucht. Zur Detektion von Allel-Differenzen zwischen den zwei Gruppen wurden über 500.000 SNPs überprüft. Sechs ausgewählte SNPs zeigten signifikante Assoziationen zur Normalverteilung von g. Die SNPs erklärten jedoch nur 0,4% der Varianz von g. Daraus lässt sich schließen, dass zukünftige Studien, die mit einer wesentlich größeren SNP-Anzahl durchgeführt werden müssen, nützliche Ergebnisse hervorbringen können (Butcher et al., 2008).

2.3.3 Assoziation genetische Polymorphismen verschiedener Gene und Neurotransmittersysteme mit Kognition

Die Assoziation kognitiver Funktionen konnte bei verschiedenen Genen und Neurotransmittersystemen nachgewiesen werden.

Glutamat

Der metabotrope Anteil des NMDA-Rezeptors (GRM3) des exzitatorischen Neurotransmitter Glutamat nimmt starken Einfluss auf Prozesse des Arbeitsgedächtnisses (Tan et al., 2007). Der SNP rs17676277 auf Chromosom 7q21.1-q21 zeigt eine Assoziation zu Leistungen im *modified card sorting test* (MCST). Der TT-Genotyp zeigte signifikant weniger Fehler als der AA- und AT-Genotyp sowie kombinierte AA/AT Genotypen (Baune et al., 2010). Eine andere Studie konnte eine Assoziation des SNP hCV11245618 mit verschiedenen kognitiven Tests der präfrontalen und hippokampalen Funktion aufweisen. A-Allel-Träger schnitten signifikant schlechter ab als G-Allel-Träger. Bei AA-Homozygoten konnte eine verringerte Glutamat Neurotransmission im präfrontalen und hippokampalen Bereich nachgewiesen werden (Egan et al., 2004).

Dopamin

Der Neurotransmitter Dopamin wird größtenteils durch das Enzym *Catechol-O-Methyl-Transferase* (COMT) im frontalen Kortex abgebaut. Durch Inaktivierung von Catecholaminen werden elementare Zellfunktionen aufrecht erhalten (Nackley et al., 2009). Funktionelle Polymorphismen des COMT-Gen zeigen Assoziationen mit Dopamin- und Norepinephrin abhängigen neuropsychiatrischen Störungen (Fan et al., 2005; Tunbridge et al., 2006) sowie neurodegenerativen Erkrankungen (Bialecka et al., 2008; Kunugi et al., 1997). Eine durch den SNP rs4680 verursachte Aminosäuresubstitution von Valin zu Methionin führt zu Leistungsminderungen insbesondere bei Exekutivfunktionen, dem Arbeitsgedächtnis, der fluiden Intelligenz und der Aufmerksamkeitskontrolle (DeMille et al., 2002; de Frias et al., 2005; Dickinson & Elvevag, 2009). Barnett et al. konnten eine Beeinträchtigung des Verbal-IQs und des Arbeitsgedächtnisses bei Kindern (8-10 Jahre) mit dem Val/Met Genotyp nachweisen. Weitere Studien zeigten signifikant bessere und konstantere Leistungen beim WAIS-R oder WCST (*Wisconsin Card Sorting Test*) erwachsener, gesunder Probanden mit dem Genotyp Met/Met. Träger des Val-Allels schnitten in Tests zu Exekutivfunktionen und räumlicher Orientierung schlechter ab, als Träger des Met/Met Genotyps. Val-Allel-Träger verschlechterten sich zunehmend in einer 5-Jahres-Spanne (Aguilera et al., 2008; Barnett et al., 2009; Bruder et al., 2005; Enoch et al., 2009; Heinz & Smolka, 2006; Prata et al., 2009; Raz et al., 2009).

Serotonin

Das serotonerge Neurotransmittersystem interagiert über verschiedene Rezeptoren mit den cholinergen und GABA-ergen, glutaminergen und dopaminergen Systemen (Buhot et al. 2000). Ein funktionaler Polymorphismus (His452Tyr, rs6314) im Gen des Serotonin2A-Rezeptors (HTR2A) weist eine Assoziation mit episodischer Gedächtnisleistung vor allem junger erwachsener Menschen auf (DeQuervain et al. 2003, 2006). Die Arbeitsgruppe um Wagner et al. konnte dies in einer Kohortenstudie mit 133 erwachsenen Probanden bestätigen. Träger des Tyr-Allels zeigten signifikant schlechtere Leistungen bei Gedächtnis- und Wiedererkennungsaufgaben (Wagner et al., 2008).

GABA

Der Neurotransmitter GABA wird zum Großteil durch das Enzym *Succinate semialdehyde dehydrogenase* (SSADH; locus 6p22) abgebaut. Ein Mangel dieses Enzyms kann zu schwerwiegender neurologischer Erkrankung führen (Akaboshi et al., 2003). Plomin et al. konnte einen funktionellen Polymorphismus im *succinate-semialdehyde dehydrogenase (aldehyde dehydrogenase 5 family, member A1)*-Gen nachweisen, Träger des *major*-Allels (welches ein Enzym mit höherer SSADH-Aktivität kodiert) zeigten bei der englischen Version des HAWIE-R signifikant bessere Ergebnisse (Plomin et al., 2004). In einer weiteren Studie konnte eine wichtige Funktion des SSADH bei der Erhaltung kognitiver Funktionen in fortgeschrittenem Alter belegt werden (De Rango, 2008).

Brain-derived neurotrophic factor

Der *Brain-derived neurotrophic factor* (BDNF) gehört zur Familie der polypeptiden Wachstumsfaktoren. Er beeinflusst Differenzierung und Fortbestehen von Neuronen des wachsenden Nervensystems und ist wichtig für die Regulation synaptischer Plastizität und Konnektivität im Gehirn; welchen Lernen und Gedächtnis zugrunde liegen. (Bath & Lee, 2006; Laske & Eschweiler, 2005). Der SNP 196G-A (Val66Met) auf Chromosom 11p13 führt zu Beeinträchtigung der Hypocampus-gesteuerten Gedächtnisleistung (Egan et al., 2003). Träger des Met-Allels zeigen eine veränderte kortikale und hippocampale Morphologie. Val/Met Träger weisen ein kleineres hippocampales Volumen auf als homozygote Träger des Val-Allels (Val/Val) (Pezawas et al., 2004; Szeszko et al., 2005). Es konnte gezeigt werden, dass Met-Allel-Träger (Val/Met)/(Met/Met) in verschiedenen Hippokampus-gesteuerten Gedächtnisleistungen schlechter abschneiden als Val/Val Träger, unter denen Frauen die besten Ergebnisse zeigten (Egan et al., 2003; Miyajima et al., 2008; Raz et al., 2009; Tsai et al., 2004). Es lies sich auch eine erhöhte Anfälligkeit für neuropsychiatrische Störungen nachweisen (Egan et al., 2003; Hariri et al., 2003). Ein Zusammenhang mit der Entstehung neurodegenerativer Erkrankungen wie Morbus Parkinson, Morbus Alzheimer oder Morbus Huntington wird vermutet (Schindowski et al., 2008; Schulte-Herbruggen et al., 2007; Zuccato & Cattaneo, 2009).

Apolipoprotein E

Das auf Chromosom 19 liegende Gen des *Apolipoprotein E* stellt im Gehirn einen wichtigen Faktor für die Aufrechterhaltung der neuronalen Cholesterohomeostase, der neuronalen Plastizität sowie der Regeneration von Neuronen nach Zellschädigung dar (Boschert et al., 1999; Fagan & Holtzman, 2000). Es zeigt zahlreiche Allelvarianten (de Knijff et al., 1994), von denen die drei wichtigsten Allele das $\epsilon 2$, das $\epsilon 3$ und das $\epsilon 4$ -Allel darstellen. Bei Trägern des APOE- $\epsilon 4$ -Allels konnte ein kleineres hippocampales Volumen dargestellt werden (Cohen et al., 2001; Farlow et al., 2004). APOE- $\epsilon 4$ -Allels Träger korrelieren mit kognitiv schwächeren Leistungen (Farlow et al., 2004; Harwood et al., 2002) und weisen eine Assoziation zu stärkerer kognitiver Leistungsverminderung mit zunehmendem Alter auf (Caselli et al., 2004; Deary et al., 2002; Reynolds et al., 2006). Vor allem bei homozygoten Männer ($\epsilon 4/\epsilon 4$) konnten dramatische Verluste des episodischen Gedächtnisses festgestellt werden, während sich bei Frauen nur eine leichte Verschlechterung zeigte (Lehmann et al., 2006). ApoE stellt bisher das einzige sicher identifizierte, mit Morbus Alzheimer assoziierte Gen dar (Butler et al., 2009). Es besteht eine starke Assoziation von Genotyp APOE- $\epsilon 3$ wie auch APOE- $\epsilon 4$ (Bu, 2009; Klages et al., 2003; Wilson et al., 2002). Eine Veränderung der Gehirnaktivität bei Trägern von APOE- $\epsilon 3$ und APOE- $\epsilon 4$ kann schon bei gesunden Erwachsenen, lange vor Ausbruch von Symptomen der Alzheimerdemenz, nachgewiesen werden (Reiman et al., 2004; Wishart et al., 2006).

Interleukin 1 beta

Das *Interleukin 1 beta*-Gen (IL1b-Gen) wird sowohl von peripheren Immunzellen als auch von Glia und Neuronen des Gehirns exprimiert und spielt eine wichtige Rolle bei der Modulation von neuroendokrinen Systemen und synaptischer Plastizität. Die höchste Dichte an IL1b-Rezeptoren befindet sich im Hippokampus. Avital et al. konnten nachweisen, dass IL1b mit Gedächtnisleistungen sowie Kurz- und Langzeitpotenzierung assoziiert ist (Avital et al., 2003), eine Abweichung von der physiologischen Menge, sowohl nach oben als auch nach unten, führt zu einer Beeinträchtigung der Gedächtnisleistung (Goshen et al., 2007).

Kognitive Funktionen zeigen eine Assoziation zu einer Vielzahl an untereinander agierender, neuronaler Systeme. Auch Neurofilamente (NF) scheinen an der Etablierung und Konstanthaltung kognitiver Funktionen beteiligt zu sein. NF sind

Hauptbestandteil des Zytoskeletts und finden sich in großer Anzahl in Neuronen. Expressionsmuster der NF erklären ein Mitwirken bei der Aufrechterhaltung der Plastizität des neuronalen Zytoskeletts sowie Bildung und Aufrechterhaltung der neuronalen Architektur (Bajo et al., 2001). NF-Akkumulationen sind ein pathologisches Kennzeichen vieler neurodegenerativer Funktionsstörungen wie z.B. Amyotrophe Lateralsklerose (ALS), Morbus Parkinson (PD), Charcot-Marie-Tooth Erkrankung (CMT) oder Morbus Alzheimer (AD) (Perrot & Eyer, 2009). Auch ein spezifischer Zusammenhang von NEFL und neurodegenerativen Erkrankungen konnte nachgewiesen werden - in betroffenen Hirnarealen an z.B. AD oder HIV erkrankten Probanden konnten verminderte NEFL-Konzentrationen gemessen werden (Bergeron et al., 1994; Wong et al., 2000; Menzies et al., 2002), während sich im *Liquor cerebrospinalis* ein Anstieg der NEFL-Konzentrationen feststellen lässt. (De Jong et al., 2007; Hu et al., 2002; Sjögren et al., 2001). Des Weiteren konnte eine Interaktion der Untereinheiten *neurofilament medium chain* (NEFM) und *neurofilament light chain* (NEFL) mit dem Dopamin-Neurotransmittersystem beschrieben werden (Bergson et al. 2003). NEFL steht in direkter Assoziation mit dem NMDA Rezeptor (Ehlers et al. 1995). Aufgrund dieser Erkenntnisse wurde in dieser Arbeit die Assoziation der Polymorphismen rs2976441 und rs11779795 des NEFL-Gens mit kognitiven Fähigkeiten untersucht.

2.4. Neurofilamente

2.4.1 Allgemeine Aspekte

Neurofilamente (NF) sind Intermediärfilamente der Neuronen. Sie sorgen für neuronale Stabilität und Dehnungsflexibilität und sind am intrazellulären Transport zu Axonen und Dendriten beteiligt. NF werden ausschließlich in Neuronen exprimiert, als größter Anteil der interagierenden Zytoskelettproteine sorgen sie für Aufrechterhaltung der Zellform und unterstützen den Transport von Partikeln und Organellen im Zytoplasma. In großen myelinisierten Axonen stellen sie die meist vorkommende Komponente dar, ihre Hauptfunktion besteht in der Kontrolle des axonalen Kalibers (Perrot et al., 2008). Intermediärfilamente (~10 nm) stellen, basierend auf unterschiedlichen Durchmessern und Proteinkomponenten, mit Mikrotubuli (~24 nm) und Mikrofilamenten (~6–8 nm), die Untergruppen der Zytoskelettpolymere dar. Intermediärfilamente bestehen aus verschiedenen

Einleitung

Proteinen und kommen vor allem in Zellen vor, die hohem, mechanischem Stress ausgesetzt sind. Während Mikrotubuli und Mikrofilamente immer in gleicher Polymeranordnung erscheinen, zeigen Intermediärfilamente je nach Gewebe und Zelle differente Strukturen. Auf Molekularstrukturen basierend werden Intermediärfilamente in fünf Subgruppen aufgeteilt (siehe Tab 1-4).

Tab. 1-4 Die 5 Subgruppen der Intermediärfilamente

Table 1. Types of IFs. IFs include five defined types and other undefined types. Their molecular weights are varied, and they are found in different cell types. Neurofilament subunits belong to type IV IFs.

Type	Name	Molecular weight	Cell
I	acid keratins	40–60 kDa	epithelial
II	basic keratins	50–70 kDa	epithelial
III	desmin GFAP peripherin/vimentin	50–70 kDa	muscle astroglia mesenchymal, tissue cultured cells
IV	NF-L, NF-M, NF-H α -internexin nestin	50–200 kDa	neuronal immature neuronal CNS stem cells
V	nuclear lamins	60–70 kDa	most other undefined types

Neurofilamente wurden bereits im 19. Jahrhundert von Valentin (Valentin, 1836) und Purkinje (Purkinje, 1838) als fibröses Netzwerk in Neuronen beschrieben. Apathy (Apathy, 1897) und Cajal (Cajal, 1903) gelang es mit Hilfe der Silberfärbung die Neurofibrillen zu visualisieren. Mit der Entwicklung des Elektronenmikroskops 1931 konnte Schmitt (Schmitt, 1968) zeigen, dass diese sogenannten Neurofibrillen aus Filamenten mit ca. 10nm Durchmesser bestehen. Mit der Entwicklung spezifischer Antikörper, transgener Tiermodelle und molekulargenetischer Methodik konnte die Erforschung der NF bis auf Molekularebene vorangebracht werden (Liu et al., 2004).

2.4.2 Aufbau und Struktur

Gemeinsam mit Peripherin, Nestin und α -Internexin gehören die NF zur Gruppe der Typ IV Intermediärfilamente. Sie weisen eine prototypische Struktur auf, bestehend aus zwei umeinander gewundenen Polypeptid α -Helixes (*rod*-Domäne), die von Knüpfungen unterbrochen und von eine N-terminalen Kopf-Domäne und C-terminalen Schwanz-Domäne flankiert werden (siehe Abb. 2-7). Die zentrale α -

Einleitung

helikale *rod*-Domäne beinhaltet 310 Aminosäuren und wird von der amino-terminalen Kopf-Domäne und der carboxy-terminalen Schwanz-Domäne eingefasst. Die *rod*-Domäne beginnt und endet mit hoch konservierten Motiven, welche charakteristisch- und für eine korrekte Anordnung der Filamente essentiell sind. Im mittleren Teil der *rod*-Domäne ist jede siebte Aminosäure hydrophob was die Formation α -helikaler, paralleler Homo- oder Heteroformen ermöglicht. Die amino-terminale Kopf-Domäne wird extensiv durch Phosphorylierung und O-Glykosylierung post-translational modifiziert. Diese Modifikationen sind charakteristisch und essentiell für eine exakte Zusammenlagerung (Liu et al., 2004; Omary et al., 2004; Oshima, 2007).

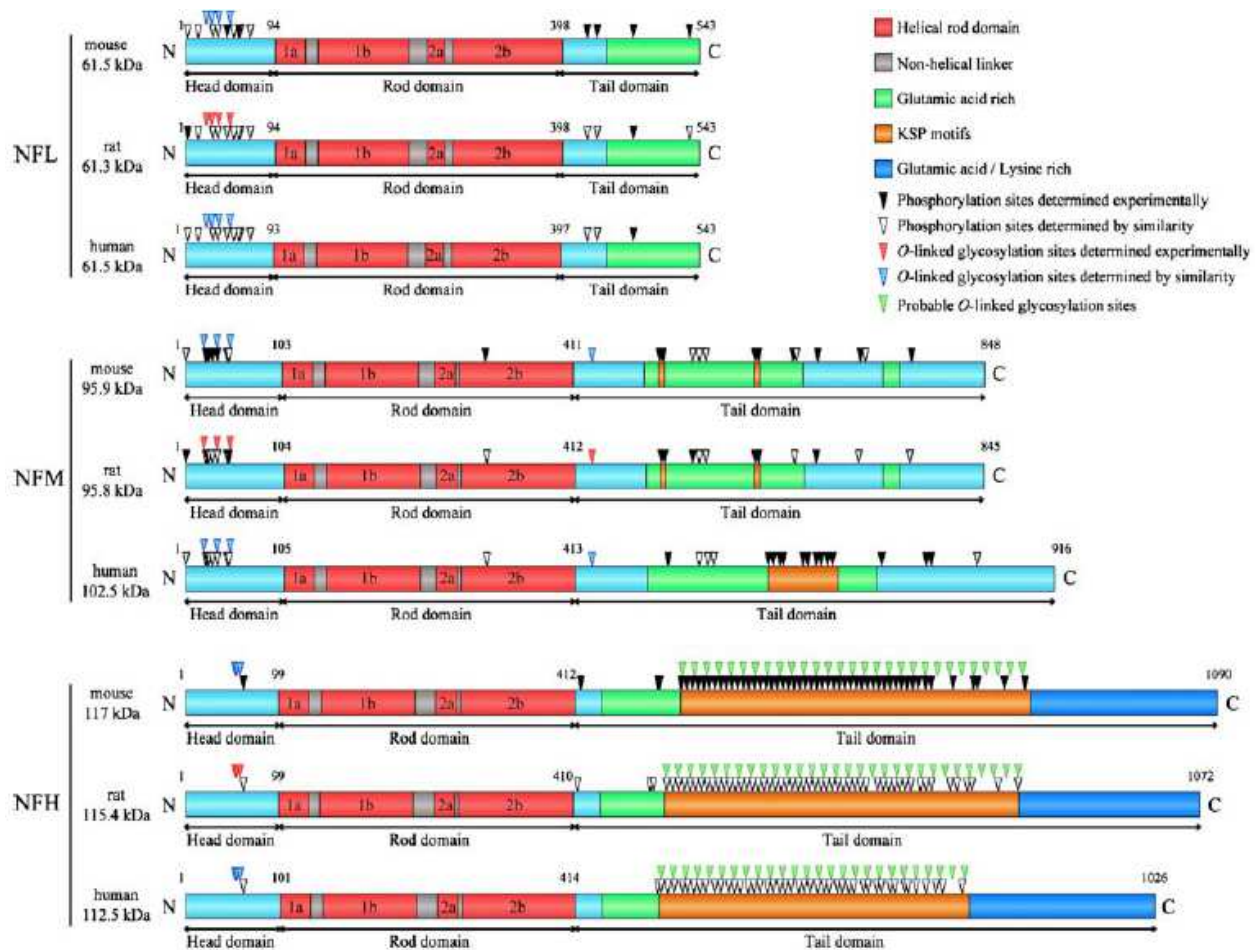


Abb. 2-7: Schematische Darstellung der Neurofilamentuntereinheiten (Maus/Ratte/Human) (Perrot et al., 2008).

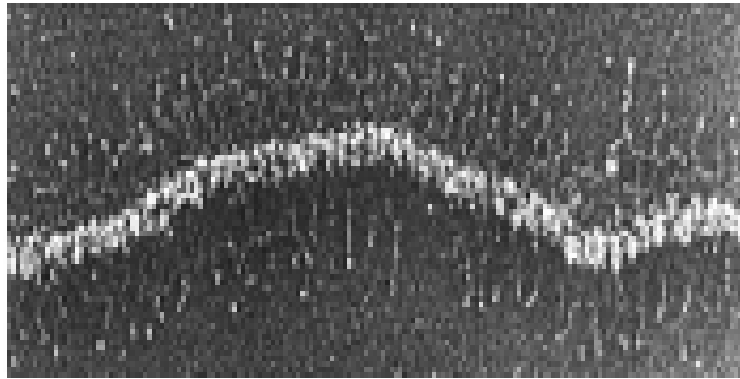


Abb. 2-8: Formation einer 10nm-Fiber der NF-Subgruppenproteine. Der Körper (*core*) besteht aus der Kopf- und *rod*-Domäne, die Schwanz-Domäne wird von den Seitenarmen dargestellt (Barry et al., 2007).

NF sind obligate Heteropolymere und werden anhand ihres Molekulargewichts in drei Untereinheiten eingeteilt: NEFL (light, 68 kDa), NEFM (medium, 160 kDa) und NEFH (heavy, 212 kDa) (Lees et al., 1988). Die drei NF-Untereinheiten werden je nach Differenzierung der Neuronen in unterschiedlichen Entwicklungsstadien exprimiert. NEFL wird zu Anfang neuronaler Expression exprimiert, NEFM kurz nach Entstehung der Neuritformationen, die NEFH-Exprimierung erfolgt erst später, wenn axonales Längenwachstum zur Nervensystemreife benötigt wird (Carden et al., 1987; Willard & Simon, 1983). Alle Neurofilamente werden ausschließlich in Neuronen exprimiert, kommen aber sowohl im peripheren (PNS)- als auch zentralen (ZNS) Nervensystem vor und sind die meist vorkommenden Strukturen in großen myelinisierten Neuronen (Yan et al., 2007).

Zusammenlagerung der Heteropolymere

Ursprünglich wurde davon ausgegangen das ein Heteropolymer jeweils aus NEFL und NEFM oder NEFH besteht. Neuere Studien machen jedoch auf eine Beteiligung anderer Proteine, wie α -Internexin und Peripherin aufmerksam (Beaulieu et al., 1999; Yuan et al., 2006). Die kleinste Einheit eines Neurofilamentproteins (NFP) stellt ein Tetramer dar, das aus zwei antiparallelen Dimeren (NEFL + NEFM / NEFH) besteht. NEFM und NEFH oder deren Kombination sind in Absenz von NEFL nicht zur Filamentformation befähigt (Lee et al., 1993). Sofort nach NF-Exprimierung erfolgt die Zusammenlagerung zu Intermediärfilamenten. Der erste Schritt stellt die

Einleitung

Dimerisierung von NEFL mit NEFM oder NEFH dar, dies erfolgt über eine Assoziation der konservierten *rod*-Domänen welche parallel, Seite an Seite aneinander gelagerte Ringdimere bilden. Jeweils zwei Ringdimere lagern sich im *Zickzack* zusammen und formen so ein anti-paralleles Tetramer. Tetramere lagern sich zu Protofilamenten zusammen welche letztlich das finale 10nm-Filament darstellen (siehe Abb.2-9) (Perrot et al., 2008).

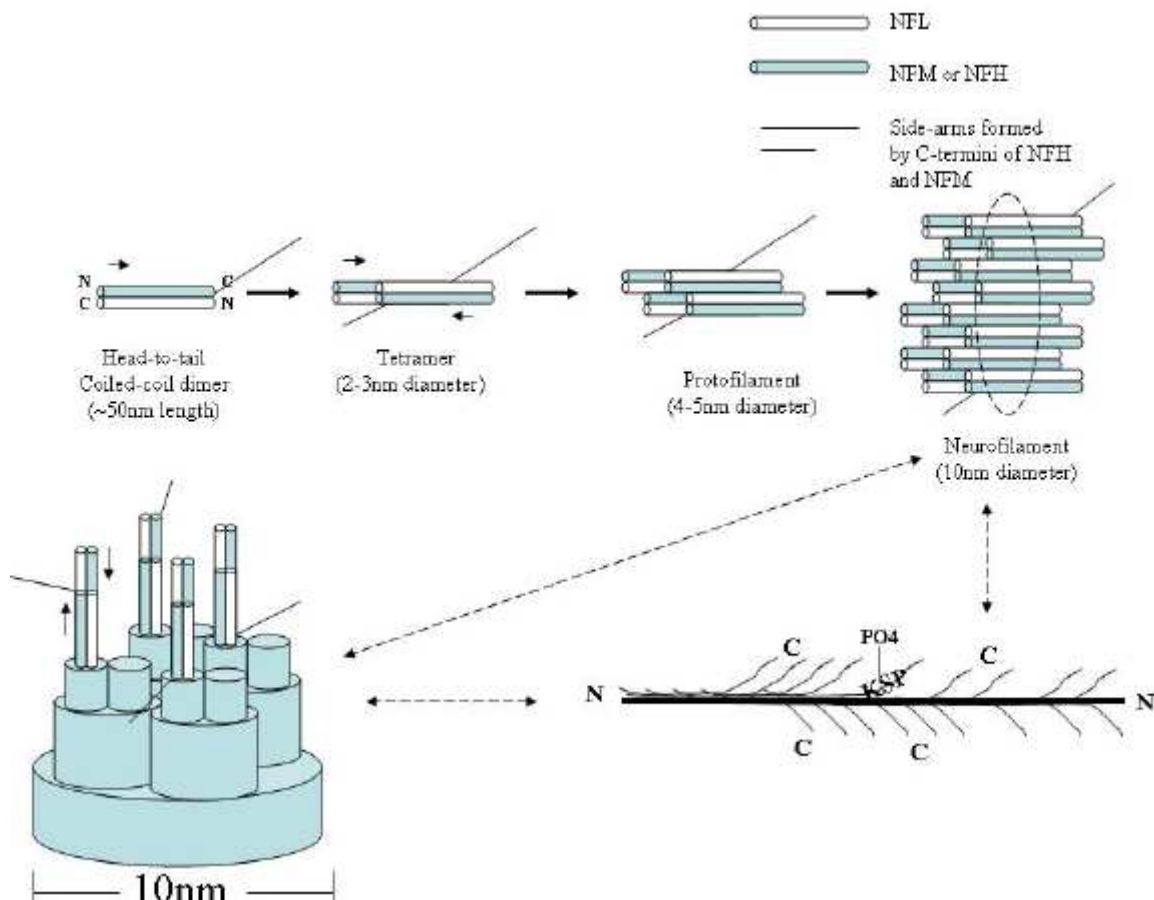


Abb. 2-9: Schematisches Modell der Neurofilament Anordnung. Die Zusammenlagerung erfolgt über Heteropolymerbildung vom NEF-L mit NEF-M oder NEF-H, die sich wiederum zu Tetrameren oder Protofibrillen zusammenlagern. Der Querschnitt eines 10nm Neurofilaments besteht aus circa 32 Molekülen (Liu et al., 2004).

2.4.3 Expression

Die humanen NEFL- und NEFM-Gene liegen sehr nahe beieinander auf Chromosom 8p21 (Myers et al., 1987b), während das NEFH-Gen auf Chromosom 22q12.2 liegt (Lees et al., 1988). Während die Gene der Intermediärfilament-Subgruppen acht identische Introns aufweisen von denen sechs auf Regionen lokalisiert sind, die für die α -helikalen Sequenzen kodieren, weist das NEFL Gen eine komplett veränderte Intron-Exon Organisation auf. Es bestehen insgesamt nur 3 Introns, keines davon liegt auf einer Position die bei den anderen Mitgliedern der IF Gen-Familie gefunden wurden (Julien et al., 1987). Mögliche evolutionäre Erklärungen wurden diskutiert (Lees et al., 1988). Wie oben erwähnt wird NEFL zusammen mit α -Internexin und Peripherin vor NEFM exprimiert. In dieser frühen Phase besteht das Axonskelett vor allem aus Mikrotubuli während NEFL und NEFM nur in geringer Mengen vorliegen. Die *up*-Regulation der NEFH- und NEFM-Expression erfolgt zusammen mit der NEFH-Expression, die reife NF-Komposition fördert Stabilität und Kaliber der Axone. Bei Axonverletzung werden NF-mRNAs und Proteine im peripheren- und zentralen Nervensystem stark *down*-reguliert, was zu verringerter Menge an axonal transportierten NF in beschädigte Neuronen führt. Während der Regeneration verletzter Axone im PNS wird die Expression von NF stark *up*-reguliert. Diese Reversion findet bei verhinderter Regeneration nicht statt. Auch im ZNS findet keine Reversion statt, da ZNS-Axone normalerweise nicht regenerationsfähig sind.

Nach Fertigstellung der reifen NF erfolgen post-translationale Modifikationen (Phosphorylierung, Glycosylation, Nidration, Oxidation und abschließend Ubiquitation). Die Degradation der NF erfolgt durch Calcium-aktivierte- und weitere unspezifischen Proteasen. Bei vielen Gewebsverletzungen wird ein Anstieg freien Calciums induziert was eine massive Proteolyse von NF bewirkt (Perrot et al., 2008). Inhibition der Calcium-aktivierten Protease führt zu verminderter Reduktion der NF. Die Generierung Protease-resistenter NF-Fragmente könnte für die Entstehung von Autoantikörpern gegen NF-Proteine verantwortlich sein, welche bei Morbus Parkinson und verschiedenen anderen neurologischen Erkrankungen detektiert wurden (Bahmanyar et al., 1983; Stefansson et al., 1985). Abnormale NF-Aggregationen sind das Markenzeichen verschiedener neuropathologischer Erkrankungen. Die Amyotrophe Lateralsklerose zeigt eine Akkumulation in Zellkörpern oder in proximalen Anteilen von Axone von Motorneuronen, bei Morbus Parkinson finden sich NF-Aggregationen in Lewy-Körpern und bei Morbus Alzheimer

in neurofibrillären Bündeln (Hirano 1991; Corbo & Hays 1992; Hill et al., 1993; Leigh et al., 1989).

2.4.4 Funktion (dargestellt anhand NEFL-Maus-Modellen)

NF spielen eine essentielle Rolle für axonales, radiales Längenwachstum, sowie Aufrechterhaltung des axonalen Kalibers. Dies konnte in verschiedenen Tiermodellen (NEFL-Knockout Mäuse, transgene Mäuse welche humanes NEFL exprimieren und transgene Mäuse welche Maus-NEFL überexprimieren) dargestellt werden. Der erste Hinweis einer Beteiligung von NEFL an radialem Wachstum in einem Tiermodell wurde in japanischen Wachteln erbracht. Das durch eine non-sense Mutation im NEFL-Gen verursachte Fehlen von NF führte zu axonaler Atrophie (Ohara et al., 1993; Yamasaki et al., 1992). Studien an transgenen Mäusen mit NEFL-Überexpression zeigten Neurodegeneration in ventralen und dorsalen Wurzeln, eine starke NEFL-Akkumulation in thalamischen und corticalen Neuronen (nicht in Motorneuronen), erhöhte NF-Dichte in Motoraxonen und eine Hyperphosphorylierung von NEFM und NEFH im Zellkörper. Mit zunehmendem Alter der Mäuse konnte ein schwerer neuronaler Verlust im parietalen Kortex und ventrobasalen Thalamus dargestellt werden (Ma et al., 1999; Nguyen et al., 2001; Sanelli et al., 2004; Xu et al., 1993). Das axonale radiale Wachstum steht auch in enger Beziehung mit der Myelination. In vitro Myelination induziert lokales axonales Wachstum während in vivo Dysmyelination lokale axonale Atrophie hervorruft. Die Myelinisierung von Axonen scheint in direktem Zusammenhang mit der Phosphorylierung von NF zu stehen. Diese wiederum reguliert den axonalen Transport (Roy et al., 2000) und ist für die NF-Anordnung verantwortlich (Al-Chalabi & Miller, 2003).

Analysen der dysmyelinisierten Mausmutante *Trembler* zeigten verringerte NF-Phosphorylierung, reduziertes axonales Kaliber und verstärkte NF-Akkumulation (de Waegh et al., 1992). Yates et al. wiesen auf eine bedeutende Funktion der phosphorylierten NEFL-Kopf-Domänen hin. Dazu wurden vier bekannte Phosphorylierungsstellen in der NEFL-Kopf-Domäne mutiert. Während die Unterbindung der Phosphorylierung keinen Effekt aufwies, konnte bei Dauerphosphorylierung aller vier Stellen ein inhibierter axonaler Transport dargestellt werden (Yates et al., 2009).

Eine zielgerichtete Unterbrechung des NEFL-Gens in Mäusen bestätigt die essentielle Rolle der NEFL in der NF Zusammenlagerung. NEFL-Knockout Mäuse zeigen einen Substanzverlust von NEFM und NEFH auf 5%, eine Filamentzusammenlagerung findet nicht mehr statt. Es zeigen sich ALS-ähnliche Pathologien: perikariale Akkumulationen von NEFM und NEFH, eine schwere axonale Hypotrophie (-50%) spinaler Motoneurone einhergehend mit einer Reduktion der Leitungsgeschwindigkeit und eine Verlust sciataler Motoraxone von 25% konnten nachgewiesen werden (Kriz et al., 2000; Zhu et al., 1997b). Dubois et al. evaluierten den Gehirnmotabolismus von NEFL $-/-$ Mäusen. Dazu wurde die quantitative Cytochrom Oxidasen (COx) Aktivität bewertet. Veränderungen in Form erhöhter Aktivität wurden vor allem im Cerebellum, dem Hirnstamm und den Kernen der Kranialnerven gefunden. Die funktionalen Veränderungen sensorimotorischer Regionen im Hirnstamm finden sich auch bei ALS (Dubois et al., 2005).

2.4.5 Neurofilamente und Pathologien fokussiert auf NEFL

Die Entdeckung der Assoziation von Mutationen in NEFL-, NEFM und NEFH-Proteinen und verschiedenen neurodegenerativen Erkrankungen spricht für die Beteiligung der NF an diesen Pathologien. Darüber hinaus sind abnorme NF-Akkumulationen ein Markenzeichen vieler humaner neurodegenerativer Störungen wie z.B. ALS, AD, CMT, PD, Aids-Demenz-Komplex (ADS) (Abdulle et al., 2007, Gisslen et al., 2007) oder Schizophrenie. Faktoren die eine NF-Akkumulation induzieren sind multipel und beinhalten Disregulation der Genexpression, Mutationen, defekten axonalen Transport, abnorme post-translationale Modifikationen oder Proteolyse (Perrot et al., 2008).

Amyotrophe Lateral Sklerose (ALS)

Die Amyotrophe Lateral Sklerose ist eine progressive Erkrankung der Motoneurone die in circa 90 % aller Fälle sporadisch auftritt, circa 10% aller Fälle weisen einen genetischen Hintergrund auf (autosomal dominant). ALS ist die häufigste neurodegenerative Erkrankung bei jungen Erwachsenen, die Therapiemöglichkeiten sind limitiert (Phukan et al., 2007). Obwohl die Neurodegeneration überwiegend das Motoneuronensystem beeinflusst, konnten in den letzten Jahren die Kognition- und das Verhalten betreffende Symptome charakterisiert werden. Kognitive

Einleitung

Auffälligkeiten zeigen sich bei sporadischer und familiärer Form und beinhalten Defizite frontaler exekutiver Kompetenzen, diese reichen von vergleichsweise milder Ausprägung bis zur Diagnose der Frontotemporalen Demenz (FTD). Strukturelle und funktionale Bildgebung zeigt extramotorale Kortexdegeneration die mit neuropsychologischen Testergebnissen korrespondiert (Irwin et al., 2007).

Charakteristisch für die ALS ist eine intraneuronale NF-Aggregation. Transgene Mäuse die humane NEFH Proteine überexprimieren entwickeln eine progressive Motoneuronenerkrankung die durch eine perikaryale Akkumulation von Neurofilamenten charakterisiert ist, wie sie auch bei ALS dargestellt werden kann. Meier et al. generierten transgene Mäuse die NEFH und NEFL überexprimierten und konnten einen heilenden Effekt durch eine dosis abhängige NEFL Überexpression darstellen. NEFH transgene Mäuse zeigten bei kontrollierter NEFL Überexpression einen Rückgang perikaryaler Schwellung, Aufhebung des axonalen Transportdefekts und Restauration des axonalen radialen Wachstums (Meier et al., 1999). Andere Studien konnten einen bis zu 70%igen Rückgang von NEFL-mRNA in degenerierten ALS Neuronen feststellen und verstärkten die These des heilenden bzw. protektiven Effekts von NEFL (Bergeron et al., 1994; Wong et al., 2000; Menzies et al., 2002).

Die meisten ALS-assoziierten Mutationen finden sich auf dem Gen der Superoxid Dismutase 1 (SOD1). Mäuse die SOD1-Mutanten exprimieren zeigen NF-Akkumulation und einen ähnlichen Phänotyp wie Mäuse die NEFL-Mutanten überexprimieren. In verschiedenen Varianten von SOD1 Mäusen ist der axonale NF-Transport gestört. Eine Überexprimierung von NEFL in SOD1 Mäusen zeigt einen verlängerten Überlebenszeitpunkt was einen protektiven Effekt von perikaryaler NEFL-Akkumulation bei SOD1-ALS vermuten lässt (Perrot et al., 2008).

NEFL scheint auch einen Marker axonaler Degeneration in ALS darzustellen. Zetterberg et al. konnten mit ihren Untersuchungen vorhergegangene Hypothesen einer prognostischen- und diagnostischen Funktion von NEFL-Konzentrationen im CSF bestätigen. Sie untersuchten 60 sporadisch- und 19 familiär an ALS erkrankte Probanden von welchen 5 (sporadisch) bzw. 10 (familiär) SOD1 Mutationen zeigten. NEFL-Konzentrationen waren im Vergleich mit gesunden Kontrollprobanden bei allen ALS Probanden (+/- SOD1) stark erhöht und korrelierten umgekehrt mit der Krankheitsdauer (Zetterberg et al., 2007).

Morbus Alzheimer (AD)

AD ist die häufigste vorkommende Demenz, charakterisiert durch progressive kognitive Deterioration und exzessiven Gedächtnisverlust. Ursächlich werden komplexe Interaktionen genetischer und anderer Risikofaktoren diskutiert. Diese führen zu einem Verlust von Synapsen und Nervenzellen, bewirken extrazelluläre Ablagerung von Amyloid-beta Protein (senile Plaques) und intrazelluläre Ausfällung von Neurofibrillen, welche aus Tau, Neurofilamenten und anderen Zytoskelettproteinen bestehen (Polidori et al., 2007). Neben einer Veränderung in der funktionellen Integration betroffener Gehirnsysteme kommt es durch Schädigung der weißen Masse zur strukturellen Störung der Hirnintegrität (Stam et al., 2007; Cacabelos et al., 2005; Khachaturian, 2000). Initial betroffene Hirnregionen sind die für Gedächtnis und Denkfähigkeit zuständigen Areale wie der Hippokampus, präfrontale Regionen und der Gyrus Cingulus. Mit Fortschreiten der Erkrankung zeigen sich Veränderungen der funktionellen Integration im gesamten Netzwerk des Gehirns (Stam et al., 2006, 2007; Elgh et al., 2006). Leuba et al. analysierten mit Hilfe von *Immunostaining* die Ablagerung von NFT (*neurofibrillary tangles*) im frontalen Kortex. Alle Patienten zeigten starke Ablagerungen die mit einer erheblichen Schädigung von Gehirnmasse einhergingen (Leuba et al., 2009). Charakteristisch für NF in NFT sind veränderte Filamentformationen und exzessive Phosphorylationen, die Ursache wird in einer gestörten Glukose-Aufnahme vermutet (Deng et al., 2009). Ein Verlust von NEFL-Konzentrationen in betroffenen Hirnarealen konnte festgestellt werden (Bajo et al., 2001). Kittur et al. konnte in *post-mortem* Gehirnen von AD-Patienten eine signifikante Abweichungen in der NF-Genexpression darstellen; im Vergleich zu Gesunden wurde ein deutlicher Expressionsrückgang von 94% für das NEFM kodierende Gen gefunden, das für NEFL (68 kDa) kodierende Gen zeigte einen Expressionsrückgang von 73% (Kittur et al., 1994).

Im Liquor cerebrospinalis von AD-Patienten lassen sich wie auch bei ALS Patienten erhöhte Neurofilament-Konzentrationen feststellen. Patienten mit AD weisen in ihrer Altersklasse einen höheren Spiegel von NEFM und NEFH als Gesunde selben Alters auf. Gesunde höheren Alters weisen allerdings auch einen höheren NEFL-Spiegel im Vergleich zu jungen Menschen auf (Hu et al., 2002). Ob erhöhte NEFL-Konzentrationen im Rückenmarksliquor, einen Marker für die Größe des axonalen Schadens im Gehirn darstellen können muss deshalb diskutiert werden (de Jong et

al., 2007; Gisslen et al., 2007; Pijnenburg, et al., 2007). Eine weitere Studie verglich LC-NEFL-Konzentrationen von 20 Alzheimer Patienten mit moderaten bis schweren Veränderungen der weißen Substanz und Patienten mit leichten Veränderungen der weißen Substanz sowie 20 gesunden Probanden. Patienten mit schweren/mittelschweren Veränderungen zeigten erhöhte Konzentrationen im Vergleich zu leichten Schädigungen und Gesunden. Probanden mit leichter Schädigung der weißen Substanz zeigten im Vergleich zu Gesunden ebenfalls erhöhte NEFL-Konzentrationen. Damit konnte eine Assoziation von Veränderungen der weißen Substanz und erhöhten NEFL-Konzentrationen im LC bestätigt werden. (Sjögren et al., 2001). NF-Mutationen die zu einer Über- oder Minderexpression von NEFL-Proteinen bei AD führen, konnten bisher nicht nachgewiesen werden (Wang (1) et al., 2002). Neben häufig assoziierten Mutationen des ApoE-Gens (Butler, et al., 2009; Schipper, 2009) wurden unter anderem sporadisch auftretende Mutationen im Presenilin 1 Gen (PSEN1) nachgewiesen (Dowjat et al., 2001; Kulczycki et al., 2001; Theuns et al., 2000; Yang et al., 2009). PSEN1 Mutationen scheinen eine veränderte, pathologische Strukturanordnung der Neurofilamente zu bewirken (Dowjat et al., 2001).

Morbus Parkinson (PD)

Parkinson ist eine progressive Erkrankung des zentralen Nervensystems. Kennzeichnend ist das Absterben dopaminergen Neuronen der Substantia Nigra. Ein neuropathologisches Merkmal der PD ist die Formation ubiquitärer Proteineinschließungen, den *Lewy Bodies*. Diese bestehen aus NF-Proteinen, α -Synuclein, Ubiquitin und Proteasomuntereinheiten. Die Phosphorylierung und Proteolyse der NF in den *Lewy Bodies* ist gestört, NEFL- und NEFH mRNAs sind erniedrigt. Der Hauptverursacher der familiären PD stellt eine Mutation im *parkin*-Gen dar, jedoch konnte auch eine Punktmutation im NEFM-Gen (Gly336Ser) eines kanadischen Jungen nachgewiesen werden, er erkrankte im Alter von 16 Jahren. Drei weitere Familienmitglieder zeigten dieselbe Mutation, waren jedoch nicht an PD erkrankt. In vitro Untersuchungen zeigten, dass die G336S Mutation die NF Aggregation und Distribution nicht beeinträchtigt. Bei weiteren Rasteruntersuchungen kanadischer PD Patienten konnte die Mutation nicht identifiziert werden, auch in einer deutschen Studie konnte in 322 PD Patienten keine Mutation des NEFM-Gen

nachgewiesen werden. Da auch nie eine NEFL-Mutation nachgewiesen wurde, wird davon ausgegangen das NF Mutationen keinen primär ausschlaggebenden Faktor der PD darstellen. Wie bei anderen neurodegenerativen Erkrankungen kann NEFL auch bei PD im CSF nachgewiesen werden und fungiert als diagnostischer Marker der PD (Constantinescu et al., 2009)

Charcot Marie Tooth (CMT)

CMT ist die häufigste Form einer hereditären peripheren Neuropathie, sensorische und motorische Nerven sind betroffen. Leitsymptom ist eine Muskelschwäche die zu Gehunfähigkeit führt (Skre 1974). CMT Neuropathien werden in verschiedenen Kategorien klassifiziert (CMT1, 3, 4 und X=demyelinisierend; CMT2=axonale Neuropathie) Eine NF-Akkumulation in CMT2 wurde erstmals von Vogel et al. dargestellt, die erste NEFL-Mutation wurde von Mersinayova et al. in einer großen russischen Familie mit CMT2 identifiziert. Heute wird davon ausgegangen, dass verschiedene NEFL-Mutationen für mindestens 2% aller CMT Erkrankungen verantwortlich sind (Jordanova et al., 2003). Die Expression mutierter NEFL in kultivierten Zellen zeigt Störungen in der NF-Aggregation, im axonalen Transport der NF und induziert mitochondriale Akkumulation in Zellkörpern und proximalen Axonen (Brownless et al., 2002, Perez-Olle et al., 2002). Nerven von Patienten mit NEFL Mutationen zeigen Schwannzellabnomalien und abnorme NEFL-Phosphorylierung in demyelinisierten axonalen Segmenten (Jordanova et al., 2003, Fabrizi et al., 2007). Filali et al. konnten anhand von transgenen Mausmodellen mit der NEFL-Mutation P22S eine kognitive Funktionseinschränkung in Form von Rechts/Links Diskriminationsschwierigkeiten darstellen (Filiali et al., 2010). Bisher konnten weder bei Patienten mit NEFL-Mutationen, noch bei anderen CMT Mutationen kognitive Defiziten gefunden werden. Ausnahme ist eine Studie an einer italienischen Familie mit Mutationen im Mitofusin 2 Gen, auf kognitive Beeinträchtigungen in Form von Lernschwierigkeiten konnte bei drei Familienmitgliedern hingewiesen werden (Del Bo et al., 2008).

Schizophrenie

Schizophrenie ist eine verbreitete neuropsychiatrische Erkrankung. Die Wahrscheinlichkeit im Laufe des Lebens an Schizophrenie zu erkranken, beträgt für

die Durchschnittsbevölkerung etwa 1%. Die Lebenszeitprävalenz liegt weltweit bei 0.5 bis 1%, die jährliche Inzidenzrate bei 0.05% (Möller et al., 2001). Das Prädilektionsalter für den Ausbruch der Erkrankung liegt zwischen 18 und 30 Jahren (Häfner et al., 1998). Assoziation von Gehirnstrukturen wie z. B. des anterolateralen-, dorsolateralen- oder cingulären Kortexes mit der Schizophrenie wurde ausführlich untersucht und beschrieben (Martins-de-Souza et al., 2009, 2010). Der dorsolaterale präfrontale Kortex (Brodmann's Area 46) beeinflusst beispielsweise kognitive Strukturen wie Arbeitsgedächtnis oder Persönlichkeit (Martins-de-Souza et al., 2009). Der cinguläre Kortex ist in Exekutivfunktionen, Emotionen, Sozialverhalten und autonomen Funktionen involviert (Luu & Posner, 2003).

Nachdem Sivagnanasundaram et al. 2007 mit Hilfe einer Proteomanalyse aus Corpus Callosum Gewebe an Schizophrenie erkrankter Probanden auf eine Downregulation von NEFM und NEFL aufmerksam machen konnten, stellte die Arbeitsgruppe um Martins-de-Souza mit einer Massenspektrometrie 210 markierte Proteine im anterolateralen Kortex dar, von welchen 31 (83,8%) eine Downregulation zeigten, darunter auch NEFM und NEFL (Martins-de-Souza et al., 2009).

Auch folgende Proteomanalysen des dorsolateralen und anterocingulären Kortexes, sowie des Thalamus schizophrener Probanden zeigten Downregulationen Zytoskelett-zugehöriger Proteine wie NEFM und NEFL und bestätigten die vorhergehenden Ergebnisse (Martins-de-Souza et al., 2009, 2010).

2.4.6 Oxidativer Stress

Ein Schlüsselfaktor beginnender demenzieller Erkrankungen scheint oxidativer Stress darzustellen. Oxidativer Schaden im Gehirn manifestiert sich unter anderem bei ansteigender Lipid-Peroxidation, DNA-Oxidation, Protein-Oxidation und Amyloid- β (A β)-vermittelter Tyrosine-Nitration von Proteinen. Die ansteigende Nitration von Tyrosin kann Proteinfunktionen irreversibel unterbrechen (Koppal et al., 1999), eine pathogene Schlüsselrolle bei der Progression kognitiver Beeinträchtigung wird angenommen (Keller, 2006; Smith, Richey Harris, Sayre, Beckman & Perry, 1997). In verschiedene Studien konnte eine Assoziation der A β -vermittelten Tyrosinnitration mit kognitivem Verfall beschrieben werden (Castegna et al., 2003; Sacksteder et al., 2006; Strong et al., 1998; Sultana et al., 2006; Tran et al., 2003).

Einleitung

Alkam et al. suchten nach weiterer Evidenz einer pathogenen Rolle von Protein-Nitrationen als Schlüsselfaktor kognitiven Verfalls. Dazu wurden tyrosinnitrierte Proteine im Hippokampus mit Hilfe von Maus-Antikörpern im Westernblot detektiert. Sowohl Position wie auch Intensität der Nitration korrelierten positiv mit kognitiver Beeinträchtigung der Mäuse (Alkam et al., 2007). Mit einer weiteren Spezifizierung der nitrierten Proteine auf einem *single band* konnte eine intensive Nitration von NEFL dargestellt werden. Diese ging einher mit einer pathologischen NEFL-Hyperphosphorylierung und einer reduzierten NEFL/NUDEL (*nuclear distribution element-like*) Interaktion. NUDEL stellt eines der essentiellen Proteine für die stabile NF-Aggregation dar. Weitere molekularbiologische Studien zur NEFL-Nitration sind bisher nicht bekannt; durch oxidative Minderversorgung entstandenen hyperphosphorylierte NEFL-Proteine wurden jedoch auch bei anderen neurodegenerativen Erkrankungen, wie z. B. der frontotemporalen Demenz oder HIV-bedingter Neurodegeneration gefunden. Diese Ergebnisse könnten das Konzept einer extensiven Tyrosinnitration in Proteinen als einen Schlüsselmechanismus für die Induktion kognitiver Funktionseinschränkungen unterstützen (Alkam et al., 2008).

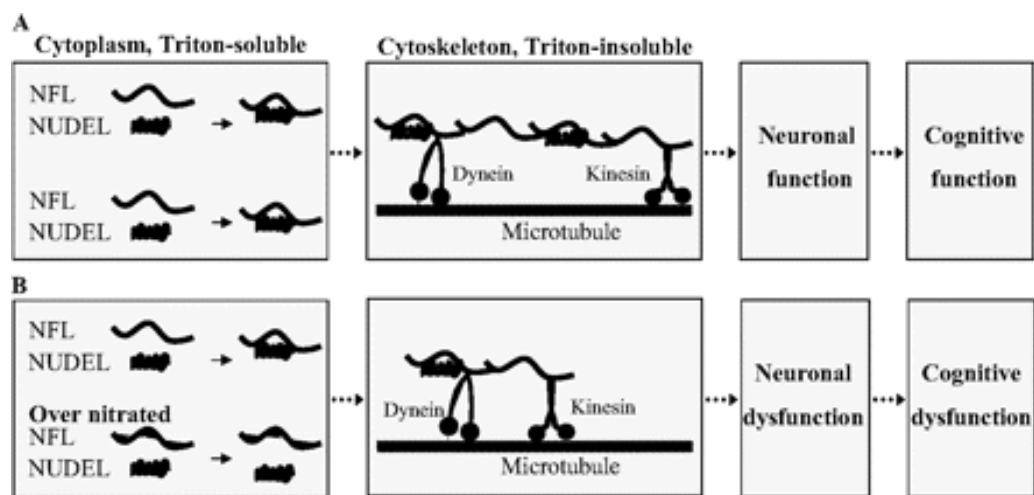


Abb. 2-10: Der Einfluss einer exzessiven Nitration von NEFL auf kognitive Funktionen. Bildreihe A: NEFL interagiert mit NUDEL, die essentiell für die Bindung der NEFL Subeinheiten während der Zusammenlagerung zum NF-Netzwerk ist. Normale Zusammenlagerung und Ausdehnung der Filamente bedingt normale neuronale und kognitive Funktion. Bildreihe B: Eine übermäßige Nitration von NEFL unterbricht die Interaktion von NEFL mit NUDEL und kann so zu defekten NF-Zusammenlagerungen und damit zu abnormalen neuronalen und kognitiven Funktionen führen. (Alkam et al., 2008).

2.5 Fragestellung

Eine Vielzahl von Studien konnte den genetischen Einfluss auf kognitive Funktionen darstellen. Inwiefern genetische Komponenten im Vergleich zu anderen beeinflussenden Faktoren wie z. B. Umweltfaktoren eine Rolle spielen, und welche genetischen Komponenten beteiligt sind, muss noch weiter untersucht werden. Mit dem Ziel, auf molekulargenetischer Ebene Suszeptibilitätsgene zu detektieren, welche Effekte auf die komplexe Eigenschaft Intelligenz ausüben, werden Assoziationsstudien durchgeführt. Diese stellen eine sensitive Methode für die Identifikation polygener Merkmale mit potenziell geringen Effekten bei den einzelnen Genen dar.

NEFL ist am korrekten Aufbau des Zytoskeletts beteiligt, sorgt für neuronale Stabilität und reguliert den axonalen Durchmesser sowie axonalen Transports wesentlich. Ein Hauptmerkmal verschiedener neurodegenerativer- und mit Neurodegeneration assoziierter Erkrankungen ist eine NEFL-Hyperphosphorylierung in den jeweils betroffenen Hirnstrukturen. Dies führt zu pathologischen Aggregationen und Akkumulationen der NEFL-Proteine. Diese NEFL-Pathologie wird in vielen neurodegenerativen Erkrankungen als Markenzeichen angesehen. Ein direkter Zusammenhang von oxidativem Stress und NEFL-Nitration die zu Hyperphosphorylierung führt konnte nachgewiesen werden. Des Weiteren lässt sich NEFL im Liquor von an neurodegenerativen Erkrankungen betroffenen Probanden in erhöhter Zahl detektieren und steht damit als potentieller diagnostischer Marker zur Verfügung. Aufgrund dieser Erkenntnisse stellt das NEFL-Gen ein Kandidatengen für eine Assoziation mit neurodegenerativen Erkrankungen und deren assoziierte kognitiven Beeinträchtigungen dar.

Die Assoziation von Neurofilamenten und neurodegenerativen Erkrankungen wurde in verschiedenen Studien untersucht. Es werden multiple Faktoren diskutiert, die zu einer NF-Akkumulation führen können, darunter Dysregulation der NF-Expression, Mutationen, defekter axonaler Transport, abnormale posttranslationelle Modifikation oder Proteolyse. Mutationen in den Genen der Neurofilamente NEFH, NEFM und NEFL sind in Assoziation mit Neurodegeneration bzw. daraus resultierenden kognitiven Beeinträchtigungen bisher nur wenige bekannt. Eine wesentliche Rolle spielen sie bei Amyotropher Lateralsklerose und der Charcot-Marie-Tooth Erkrankung, eine Punktmutation von NEFH bei Morbus Parkinson ist bekannt.

Einleitung

Die vorliegende Studie hat das Ziel, eine Assoziation zwischen den untersuchten NEFL-Polymorphismen rs2467112 und rs11779795 und den Leistungen im Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene in seiner Revision von 1991 an einer gesunden, deutschen Population zu erfassen. Dazu wurden Allel- und Genotypfrequenzen von 1210 Studienteilnehmern bestimmt und die Ergebnisse im HAWIE-R Intelligenztest festgestellt. Die Allel- und Genotypfrequenz wurde in Beziehung zur Leistung im Intelligenztest ausgewertet.

3 Material und Methoden

3.1 Studiendesign

Die NEFL-Polymorphismen rs2976441 und rs11779795 wurden im Rahmen einer Assoziationsstudie bei 552 männlichen und 658 weiblichen, neuropsychiatrisch gesunden, nicht verwandten Studienteilnehmern aus dem Münchener Großraum untersucht. Das Durchschnittsalter betrug 45,5 Jahre, die Varianz reichte von 19 Jahren bis 67 Jahren. Die Schulbildung der Probanden wurde als Covariable in die Berechnungen mit eingeschlossen (siehe Tabelle 3-1). Parallel wurden neuropsychologische Tests durchgeführt. Untersucht wurde die Assoziation zwischen den verschiedenen Allelen bzw. Genotypen und kognitiven Fähigkeiten, die mit dem HAWIE-R (Hamburg-Wechsler Intelligenztest) überprüft wurden.

Tab.3-1: Darstellung der Probandengruppen nach Geschlecht und Schulbildung

Probanden	Geschlecht (n%)		Gesamt (n)
	männlich	weiblich	
rs 2976441	534 (45,8)	632 (54,2)	1166
rs 11779795	552 (45,6)	658 (54,4)	1210

Schulbildung aller Probanden (n)	Hauptschule (n%)	Realschule (n%)	Gymnasium (n%)
1210	284 (23,5)	400 (33,1)	526 (43,5)

3.2 Vorbedingungen der Studiendurchführung

Die Studie wurde unter Zustimmung der lokalen Ethikkommission durchgeführt. Die Probanden wurden über Inhalt und Zielsetzung der Studie, Anonymität der erhobenen Daten und der Blutabnahmen sowie die Risiken aufgeklärt und gaben eine Einverständniserklärung ab. Die Untersuchungen erfolgten auf freiwilliger Basis der Probanden.

3.3 Studienteilnehmer

Alle teilnehmenden Probanden wurden per randomisiertem Verfahren aus der Münchener Bevölkerung ausgewählt. Auf ein postalisches Einladungsschreiben erfolgte bei positiver Rückantwort ein mehrstufiges Selektionsverfahren.

In einem Telefoninterview wurden interessierte Personen über Ablauf sowie Ziel der Studie aufgeklärt und erste Voraussetzungen einer Aufnahme in das Probandenkollektiv wurden überprüft. Bedingungen waren eine deutsche Abstammung bis zu den Großeltern, keine Verwandtschaft zu anderen Probanden sowie keinerlei neuro-psychiatrische oder hirnorganische Erkrankungen des Probanden und dessen Verwandten bis 3. Grades. Die telefonische Anamneseerhebung beinhaltete die Befragung nach depressiven oder manischen Phasen, Angstzuständen, Phobien, Schlaf- oder Essproblemen. Weiter sollten Angaben zu psychiatrischer Konsultation, psychiatrischer- oder neurologischen stationären Behandlungen und Suizidversuchen gemacht werden. Ferner wurde nach Medikamenteneinnahme, Medikamentenabusus, Drogen- und Alkoholkonsum oder Drogen- oder Alkoholabhängigkeit gefragt. Wurde eine dieser Fragen positiv beantwortet führte dies zum Studienausschluss.

Bei unauffälligem Screening wurde der Testperson ein mehrseitiger Fragebogen übersandt, welcher die somatische, soziale und psychiatrische Eigenanamnese und Verwandtenanamnese der Testperson und dessen Blutsverwandten noch einmal überprüfte. Ferner wurde in selbigem Anamnesebogen eine ausführliche biographische Anamnese erfasst. Gefragt wurde nach genetischer Abstammung, Schwangerschafts- oder Geburtskomplikationen, Schul- und Berufslaufbahn, Familienstand und die Lebenszufriedenheit. Weiter wurde nach Alter, Größe, Gewicht und Händigkeit gefragt. Bei den Verwandten sollten Alter, Schulabschluss und Beruf angegeben werden. Wurden Fragestellungen zu den genannten Erkrankungen oder psychischen Problemen positiv beantwortet führte dies zum Studienausschluss.

3.4 Klinisches Interview

Konnten sämtliche Kriterien zur Studienteilnahme erfüllt werden, wurde die Testperson zu einem umfassenden Interview in die Klinik eingeladen.

Das Interview bestand aus 6 Elementen (Tabelle 3-2), welche an einem Tag durchgeführt wurden.

Tab. 3-2: Elemente des klinischen Interviews in Reihenfolge der Durchführung

Körperliche Untersuchung	
Mini-Mental-State-Test (MMST)	Folstein et al.1975
Strukturiertes klinisches Interview I (SKID I) Strukturiertes klinisches Interview II (SKID II)	4. Revision 1994, Wittchen et al.1996, 1997
Family History Assessment Modul (FHAM)	Riece et al.1995
Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI)	Richter & Guthke 1996

3.4.1 Körperliche Untersuchung

Bei allen Studienteilnehmern wurden eine standardisierte neurologische Untersuchung sowie eine Überprüfung der Manumotorik und des Gehörs durchgeführt.

3.4.2 Mini-Mental-State-Test (MMST)

Der MMST ist ein klinisches Verfahren zur Detektion kognitiver Defizite bei Studienteilnehmer > 60 Lebensjahren (Folstein, Folstein & McHugh, 1975). Der als Interview durchgeführte Test überprüft zentral kognitive Funktionen wie zeitliche und räumliche Orientierung, Merk- und Erinnerungsfähigkeit, Aufmerksamkeit, Sprache und Sprachverständnis. Außerdem werden das Lesen, Schreiben, Zeichnen und Rechnen überprüft.

Es können in 30 Aufgaben insgesamt 30 Punkte erreicht werden, wobei ein Ergebnis von bis zu 27 Punkten als normal-, von 26-20 Punkten als milde Demenz-, von 19-10 als moderate Demenz- und unter 10 Punkten als schwerwiegende Demenz gewertet wurde. Studienteilnehmer mit einem Ergebnis unter 27 Punkten wurden von der Studie ausgeschlossen.

3.4.3 Strukturiertes Klinisches Interview

Zum Ausschluss von psychiatrischen Erkrankungen wurde die deutsche Version des Strukturierten Klinischen Interviews (SKID I+ SKID II) zur Exploration gemäß der Klassifikation des *Diagnostic and Statistical Manuals of Mental Disorders* (DSM-IV) der *American Psychiatric Association* in seiner vierten Revision, 1994 (Wittchen, Zaudig & Fydrich, 1997) angewendet.

SKID I ist im DSM-IV unter Achse I subsumiert und dient der Erfassung und Diagnostik psychischer Störungen. SKID I wird als semistrukturiertes klinisches Interview durchgeführt und erhebt allgemeine Informationen. Erfasst werden affektive Syndrome und deren Differenzialdiagnosen, psychotische Syndrome und deren Differenzialdiagnosen, Missbrauch und Abhängigkeit von psychotropen Substanzen, Angststörungen, somatoforme Störungen und Essstörungen.

SKID II ist im DSM-IV unter Achse II subsumiert und dient der Erfassung von Persönlichkeitsstörungen. Differenziert werden selbstunsichere-, dependente-, zwanghafte-, negativistische-, depressive-, paranoide-, schizotypische-, schizoide-, histrionische-, narzisstische-, borderline- und antisoziale Persönlichkeitsstörungen.

Mit der DSM-IV Achse IV wurden psychosozialen Beeinträchtigungen und situative Auslöser (sogenannte Life-Events) derzeitig und in der Vergangenheit erfasst. Die DSM-IV Achse V erfasste die derzeitige und frühere globale Leistungsfähigkeit. Lag weder eine psychiatrische Störung noch eine Persönlichkeitsstörung vor, wurde der Proband in die Studie eingeschlossen.

3.4.4 Family History Assessment Modul (FHAM)

Mit Hilfe des FHAM (Rice et al., 1995) wurden psychiatrische Diagnosen unter Verwandten ersten Grades (z.B. Mutter, Sohn, Bruder), zweiten Grades (z.B. Großeltern, Tante) und dritten Grades (z.B. Cousin) ermittelt. Im Interview erfasst wurden Alkohol-, Drogen- und Medikamentenabusus, Depression, Manie, Schizophrenie, antisoziale Tendenzen, neurotische Störungen, ambulante oder stationäre psychiatrische Behandlungen, Suizidversuche oder Suizidvollendung.

Probanden die eine positive neuropsychiatrische Familienanamnese aufwiesen, wurden von der Studie ausgeschlossen.

3.4.5 Leipziger Belastungsinventar (LEBI)

Mit Hilfe des Leipziger Belastungsinventar wurden in Form eines strukturierten Interviews, Informationen über individuelle Belastungen des Probanden durch kritische Lebensereignisse gewonnen (Richter & Guthke 1994).

Der LEBI besteht aus zwei Teilen in denen relevante Lebensereignisse, positive sowie negative Belastungssituationen und Lebensziele abgefragt werden und mittels eines standardisierten Protokolls ausgewertet werden. Auffällige Persönlichkeitsstrukturen wurden unter Berücksichtigung der Ergebnisse der anderen Tests mit der Studienleitung diskutiert und führten gegebenenfalls zum Ausschluss eines Probanden.

3.5 Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991 (HAWIE-R)

Neben dem klinischen Interview wurde bei allen Probanden ein Intelligenztest mit Hilfe des HAWIE-R durchgeführt.

Der HAWIE-R besteht aus zwei Teilen mit jeweils mehreren Subtest und erfasst neben der allgemeinen Begabung auch bildungsabhängige Einflüsse, Konzentrationsvermögen, psychomotorische Geschwindigkeit, visuell motorische Koordination und Beobachtungsgenauigkeit.

Der Verbalteil des HAWIE-R prüft in 6 Subtests die sprachlichen Aspekte der Intelligenz, wobei eine Abhängigkeit von Bildungsgrad und Lernerfahrung des Probanden besteht. Der Handlungsteil erhebt in fünf Subtests die praktische Intelligenz und umfasst eher ungewohntes Testmaterial. Hierbei wird die Lösungsgeschwindigkeit mitbewertet, daher ist dieser Teil altersabhängig.

In allen Subtests werden mehrere Aufgaben mit sukzessiv steigendem Schwierigkeitsgrad gestellt. In den Untertests des Handlungsteils, erfolgt die Lösung durch frei formulierte Antworten bzw. durch den praktischen Umgang mit vorgelegten Testmaterialien (z.B. Legen von Mustern mit farbigen Würfeln). Bei einigen Subtests sind eindeutige Zeitgrenzen vorgegeben. Für fast jeden Subtest sind Abbruchkriterien festgelegt. Bei einigen Subtests wird nicht nur "richtig" oder "falsch" bewertet, es können Zusatzpunkte für qualitativ bessere oder schnellere Antworten vergeben werden. Die pro Aufgabe maximal zu erreichenden Rohwertpunkte sind in

unten stehender Tabelle dargestellt (Tab. 3-3). Die Subtests werden abwechselnd, d.h. ein Test aus dem Verbalteil im Wechsel mit einem Test aus dem Handlungsteil, durchgeführt.

Der HAWIE-R ist für die Altersgruppe von 16 bis 74 genormt. Testdurchführung und Bewertung erfolgten nach dem Manual von Tewes (Tewes, 1994).

Tab. 3-3: Subtests des HAWIE-R und maximal zu erreichende Rohwertpunkte

Subtests	Maximaler Rohpunktwert
Verbal-IQ	
Allgemeines Wissen	24
Zahlennachsprechen	28
Wortschatztest	32
Rechnerisches Denken	19
Allgemeines Verständnis	26
Gemeinsamkeiten finden	32
Handlungs-IQ	
Bilderergänzen	17
Bilderordnen	56
Mosaik-Test	51
Figurenlegen	41
Zahlen-Symbol-Test	93

3.5.1 Beschreibung der HAWIE-R Subtests

Verbalteil

Allgemeines Wissen

Der Subtest Allgemeines Wissen besteht aus 24 Fragen. Gestellte Fragen sind zum Beispiel: Wie viele Monate hat ein Jahr? (Frage1). Wie viele Planeten hat unser Sonnensystem? (Frage24). Der Test dient der Überprüfung jenes Wissens, „das sich ein Durchschnittsmensch mit durchschnittlichen Bildungsmöglichkeiten selbst aneignen kann“ (Matarazzo, 1982).

Die Lösung der Aufgaben ist primär von Bildung, kultureller Erfahrung, individueller Lernkapazität und angeeignetem Wortschatz des Probanden abhängig und spiegelt das allgemeine Wissensniveau und die Aufgeschlossenheit der Person gegenüber der Umwelt wider (Wechsler, 1939). Der Test wird durch den Verbalfaktor beschrieben und weist wenig spezifische Varianz auf (Cohen, 1952a). Die Wissensbereiche wurden heterogen gehalten und es werden bewusst keine schwierigen Wörter in den einzelnen Aufgaben verwendet, um den vom Wortschatz unabhängigen Wissensbereich hervorzuheben (Tewes, 1994).

Zahlennachsprechen

Im Subtest Zahlennachsprechen werden die Probanden aufgefordert Zahlen vorwärts und rückwärts nachzusprechen. Die Länge der Zahlenreihen beginnt mit drei Zahlen und steigt fortlaufend an bis zu 9 Zahlen, jede Zahlenlänge wird jeweils doppelt mit unterschiedlichen Zahlen wiederholt. Die erste Zahlenreihe des Vorwärts-Nachsprechens lautet zum Beispiel 5-8-2. Für jede korrekt nachgesprochene Zahlenreihe gibt es einen Punkt.

Dieser Test ist weniger von Bedeutung für das allgemeine intellektuelle Leistungsniveau, vielmehr zeigt er klinische Bedeutsamkeit. Probanden mit speziellen Defekten und hirnrorganischen Erkrankungen erbringen selten gute Leistungen (Matarrazo 1982). Schlechte Ergebnisse werden oft auch von Probanden mit erhöhter Testangst oder Aufmerksamkeitsstörungen erzielt (Tewes, 1994).

Wortschatztest

Im Subtest Wortschatztest wird der Proband aufgefordert die Bedeutung von insgesamt 32 Wörtern zu erklären. Beispiele sind Apfel oder Geoid.

Dieser Test ist ein weitgehend vom Lebensalter unabhängiger Test und zeigt ein gutes Maß für die Lernfähigkeit und verbale Informationsbreite des Probanden. Er gilt als ein exzellentes Maß der allgemeinen Intelligenz einer Person (Matarazzo, 1982). Die Lösung dieses Subtestes fordert die kristalline Intelligenz. Aufnahmefähigkeit verbaler Stimuli über das Gehör und verbale Ausdrucksstärke werden analysiert (Kaufmann & Lichtenberger, 1999).

Rechnerisches Denken

Der Subtest Rechnerisches Denken besteht aus 14 Rechenaufgaben. Diese werden dem Probanden vorgelesen, Aufzeichnungen sind nicht erlaubt. Die siebte Frage lautet exemplarisch: Ein Kasten enthält 6 Flaschen Apfelsaft. Sie möchten 36 Flaschen kaufen. Wie viele Kästen macht das? In den ersten neun Aufgaben kann jeweils ein Punkt erzielt werden. Aufgabe 10 bis 14 ergeben jeweils 2 Punkte.

Alle gestellten Aufgaben beschäftigen sich mit lebensnahen Situationen und erfordern nur die Grundrechenarten. Der Test fungiert als allgemeines Intelligenzmaß, abhängig von schulischer und beruflicher Erfahrung (Matarazzo, 1982). Es werden Arbeitsgedächtnis und fluide Intelligenz überprüft (Kaufmann & Lichtenberger, 1999), das Konzentrationsvermögen ist von Bedeutung (Rapaport, 1953).

Allgemeines Verständnis

Im Subtest Allgemeines Verständnis werden dem Probanden 13 Fragen aus verschiedenen Themen- und Lebensbereichen gestellt. Fragen sind zum Beispiel: „Warum wäscht man seine Kleidung“ (einfachste), oder „Was würden sie tun wenn sie sich alleine im Wald verirren“ (schwerste). Es können 1- oder 2 Punkte pro Frage erreicht werden, der Schwerpunkt wird nicht nur auf die Logik der Antwort gelegt sondern auch auf sprachliches Ausdrucksvermögen und Sprachverständnis.

Erfasst werden das praktische Urteilsvermögen (Cohen (1), 1952), die Fähigkeit aus Erfahrungen zu lernen, das Begreifen von Ursachen-Wirkungs-Zusammenhängen und die Fähigkeit des logischen Denkens und Abstrahierens in Hinsicht auf eine oberflächliche oder differenzierte Antwort (Wechsler, 1939).

Gemeinsamkeiten finden

Im Subtest Gemeinsamkeiten finden werden dem Probanden jeweils zwei Begriffe genannt, deren Gemeinsamkeit (Überbegriff) er benennen soll. In Frage 7 soll zum Beispiel die Gemeinsamkeit eines Buches und eines Fernsehers benannt werden. Je nach Qualität der Antwort können 1 oder 2 Punkte vergeben werden. Es werden 16 Wortpaare genannt.

In diesem Subtest werden das allgemeine Abstraktionsvermögens und im Besonderen das sprachliche Abstraktionsvermögen überprüft. Sprachliche Fähigkeiten und der Wortschatz sind von Bedeutung (Furth & Milgram, 1965). Die logische Struktur der Denkprozesse wird erfasst (Matarazzo, 1982), die Fähigkeit für assoziatives Denken kann mitbeurteilt werden (Furth & Milgram, 1965).

Handlungsteil

Bilder ergänzen

Im Subtest Bilder ergänzen soll der Proband auf 17 nacheinander vorgelegten Bildern einen jeweils fehlenden Teil benennen. Es müssen bekannte visuelle Vorlagen erkannt werden und wesentliche von unwesentlichen Details differenziert werden.

Erfasst wird die Fähigkeit zwischen wichtigen und unwichtigen Details zu differenzieren (Wechsler, 1939). Die Fähigkeit zur Identifikation bekannter Gegenstände differenziert vor allem im unteren Intelligenzbereich, wobei das Ergebnis eine Abhängigkeit von der Vertrautheit des Gegenstandes zeigt (Matarazzo, 1982).

Bilder ordnen

Im Subtest Bilder ordnen werden dem Probanden 10 Geschichten in Form von Bilderserien in falscher Abfolge vorgelegt. Diese sind unter Zeitvorgabe in die richtige Reihenfolge zu bringen. Je nach Lösungszeit und gewählter Reihenfolge sind in der ersten Serie maximal 2 Punkte möglich, in den folgenden 9 Serien bis zu 6 Punkten.

Hierbei muss der Proband die Gesamtsituation verstehen und die Einzelaspekte in ihrer Bedeutung richtig einschätzen (Wechsler, 1939). Logisches Denken und soziale Intelligenz werden überprüft (Tewes, 1994).

Mosaik Test

Im Subtest Mosaik Test erhält der Proband 9 mehrfarbige Würfel, mit denen er unter vorgegebenen Zeitgrenzen 9 nacheinander vorgelegte Muster nachbauen soll die ihm auf Kärtchen gezeigt werden. Die ersten 2 Muster werden je nach Lösungszeit

mit maximal 2 Punkten bewertet, Muster 3 und 4 mit maximal 6 Punkten für die Muster 5 bis 9 können maximal 7 Punkte erreicht werden.

Erfasst wird die Handlung unter Zeitdruck (Doppelt & Wallace, 1955) die Fähigkeit Formen wahrzunehmen, sie zu analysieren und das Gesamtbild in seine Komponenten zu zerlegen (Matarazzo, 1981) und die Fähigkeit zum problemlösenden Denken (Davis et al., 1966).

Figurenlegen

Im Subtest Figurenlegen müssen 4 Kartons mit Einzelteilen unter Zeitbegrenzung jeweils zu einer Figur zusammengesetzt werden. Figur 1 ergibt maximal 8 Punkte, Figur 2 maximal 12 Punkte, Figur drei maximal 10 Punkte und Figur 4 maximal 11 Punkte.

Es werden Vertrautheit mit Formen und die Fähigkeit eine Relation zwischen Teil und Ganzem herzustellen überprüft (Wechsler, 1939). Eine qualitative Analyse des Arbeitsstils ist möglich (Tewes, 1994).

Zahlen-Symbol-Test

Im Subtest Zahlen-Symbol-Test muss der Proband unter Zeitdruck bestimmte Zeichen einer jeweiligen Ziffer (1-9) zuordnen, die in willkürlicher Reihenfolge auf einem Bogen angeordnet sind. Die Zeitspanne beträgt 90 Sekunden. Die Zuordnung muss der Reihenfolge nach geschehen und es dürfen keine Ziffern übersprungen werden. Jede richtige Zuordnung ergibt einen Punkt.

Erfasst werden allgemeine psychomotorische Geschwindigkeit, geistige Flexibilität und Konzentration, welche von emotionaler Stabilität (Wechsler, 1939) und in starkem Maße altersabhängig sind (Tewes, 1994).

3.5.2 Testauswertung des HAWIE-R nach Tewes (1994)

Die erbrachten Leistungen der einzelnen Subtests werden zunächst von den Rohpunktwerten auf Skalen übertragen. Genaue Kriterienkataloge, Schablonen und Hinweise zu den Zeitangaben liegen hierzu vor. Die maximale Rohpunktzahl ist in Tab. 3-3, S:2 angegeben. Die Rohpunktverteilung wird dann in eine standardisierte

Wertpunktverteilung transformiert. Der Mittelwert beträgt dabei 10 Punkte, die Standardabweichung drei Punkte.

Die Rohpunkte können zu Wertpunkten A oder Wertpunkte B transformiert werden: Wertpunkte A dienen der altersspezifischen Intelligenzbestimmung (IQ- Werte), sie sind Abweichungswerte der Erwartungswerte der Altersgruppe von 20-34. Zur exakten Berechnung des Intelligenzquotienten wird die Wertpunktsumme A für jede Altersgruppe gesondert in IQ-Werte umgerechnet. Die von Alterstabellen spezifisch abgeleiteten IQ-Werte haben einen Mittelwert von 100 Punkten und eine Standardabweichung von 15 Punkten.

Wertpunkte B dienen dem Vergleich der Rohwerte mit anderen Referenzgruppen, beispielsweise Abweichung von der Altersnorm oder Schulbildung (Gymnasium). So können altersunabhängige Effekte besser erkannt werden.

Aus der Summe der Wertpunkte der 6 Verbaltests, 5 Handlungstests und allen 11 Untertest zusammen werden drei Wertpunktesummen berechnet. Diese werden dann anhand standardisierter altersgruppenspezifischer Tabellen in den äquivalenten Verbal-IQ-Wert, Handlungs-IQ-Wert und Gesamt-IQ-Wert transformiert.

Der Gesamt-IQ repräsentiert das allgemeine geistige Leistungsvermögen. Differenzen zwischen Handlungs- und Verbal-IQ lassen auf eine eher praktische oder verbal-theoretische Begabung schließen. Verminderte Leistungen sollten stets vor dem Hintergrund milieuspezifischer Einflüsse und möglicher krankheits- oder verletzungs-bedingter Behinderungen analysiert werden (Tewes, 1994). Die Berechnung von Gesamt-IQ, Verbal-IQ und Handlungs-IQ wird durch nahezu alle faktorenanalytischen Studien gerechtfertigt (Blöink, 2006).

3.6 Analyse der Polymorphismen rs2976441 und rs11779795 im NEFL-Gen

Die Analyse der Polymorphismen wurde nach Standardprotokollen der Sektion Molekulare und Klinische Neurobiologie durchgeführt.

3.6.1 Materialien

Tab. 3-4: Materialien zur DNA-Extraktion (Qiagen)

Material	Menge
QIAamp Maxi Spin Röhrchen	1 Stück
Sammelröhrchen	2 Stück
Puffer AL	12ml
Puffer 1 (Guanidin HCL)	5ml
Waschpuffer (ethanolhaltig)	5ml
Puffer AE (Trispuffer>9.0pH)	1ml
QIAGEN Protease	500µl
Ethanol 96-100%	10ml

Tab. 3-5: Materialien zur DNA-Konzentrationsbestimmung

Material	Hersteller
Verbrauchsmaterialien	
96 well flat bottom plate, schwarz	Greiner
Selbstklebende Aluminiumfolie	Eppendorf
50ml konische PP-Röhrchen	Sarstedt
Reagenzien	
PicoGreen dsDNA quantitation reagent	Molecular Probes
1mal TE, pH 7,4, Tris Base, EDTA	Roth
Clontech Human Genomic DNA 100ng/ul	Clontech
Geräte	
Janus Automated Workstation (Roboter)	Perkin Elmer
Victor ³ 1420 Multilabelcounter	Perkin Elmer
Optiplex GX620 Pentium 4 HAT (PC)	Dell
Vortexer Reax	Heidolph

Tab. 3-6: PCR-Arbeitsmaterial

Reagenzien	Volumen pro Probe	Hersteller
Autoklaviertes H ₂ O	1.850µl	Purelab ultra, ELGA
PCR Puffer mit MgCl	0,625µl	Qiagen

Material & Methoden

MgCl (25 mM)	0.325µl	Qiagen
dNTP Mix (25 mM)	0.100µl	ABgene
Primer Mix (jeweils 500 nM)	1.000µl	Qiagen
Hotstar Taq (5U/µl)	0.100µl	Qiagen
Genomische DNA(5-10ng/µl)	1.000µl	

Tab. 3-7: Materialien zur Phosphorylierung (SAP-Cocktail)

Reagenzien	Volumen	Hersteller
Autoklaviertes H ₂ O	1,530 µl	Sequenom
SAP Puffer 10x	0,170 µl	
SAP Enzym 1U/µl	0,300 µl	

3.6.2 DNA-Extraktion

Allen Teilnehmern der Studie wurde Blut venös abgenommen. Es wurden gerinnungshemmende EDTA-Monovetten verwendet. Die Blutproben wurden zur Gewährleistung der Anonymität kodiert und bis zur Weiterverarbeitung bei -80°C gelagert. Gemäß dem vorgegebenen Protokoll (Abbildung 3-1) wurde die Extraktion der genomischen DNA mit Hilfe des QIAamp Blood Maxi Quit (QIAamp DNA Blood Midi/Maxi Handbook, Firma Qiagen, Hilden, Germany 2005) durchgeführt.

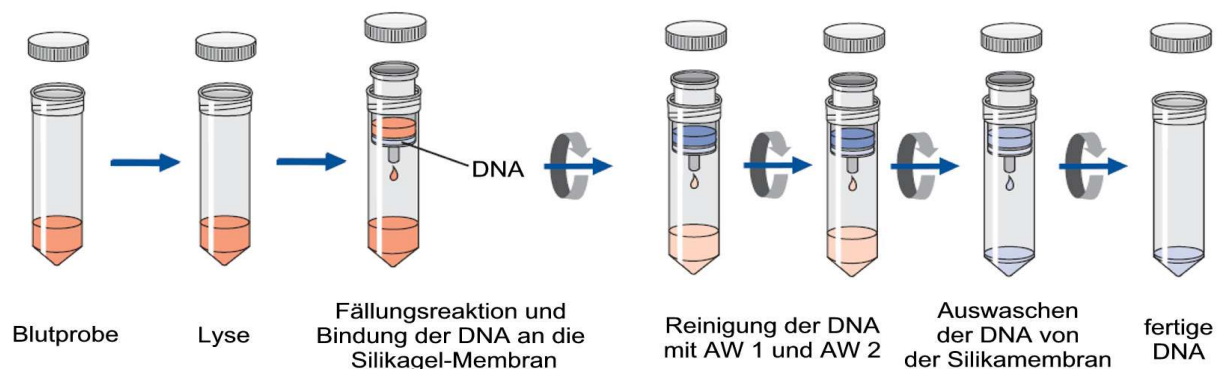


Abb. 3-1: DNA-Extraktion nach der Anleitung des QIAamp DNA Blood Midi/Maxi Kit Handbuch (2. Auflage , Januar 2005).

3.6.2.1 Arbeitstechnischer Vorgang der DNA-Extraktion

Zellyse

Nach Auftauen des EDTA Blutes bei Zimmertemperatur, wurden jeweils 5-10ml des Blutes mit 500µl Qiagen Protease versetzt, ein Enzym welches eine Lyse der Leukozyten, und eine Freisetzung der Nukleinsäuren bewirkt.

Qiagen Protease verdaut und degradiert Proteine wie Nukleasen, Histone, Hämoglobin u.a. Proteine, welche bei der späteren PCR stören könnten. Durch die Fragmentierung lassen sich die denaturierten Proteine leichter von der DNA ablösen. Zur Optimierung der Reaktionsbedingungen für die Protease wurden 12ml Guanidin-HCL-haltiger AL-Puffer zugegeben. Dieser bewirkt darüber hinaus den Entzug der Hydrathülle der DNA, was für die spätere Bindung der DNA an die Silikagel Membran nötig ist.

Zur Vervollständigung der Zellyse wurde die Lösung 2 Minuten auf dem Vortexer gemischt. Zur Maximierung des DNA Ertrags erfolgte anschließend eine mindestens 30 minütige Inkubation im Wasserbad (70°C) unter gleichmäßigem Schütteln.

DNA-Absorption

Zur Fällung der DNA auf das Säulenmaterial wurde der Probe 10ml Ethanol (96-100%) zugefügt. Nach 2 minütiger Homogenisierung auf dem Vortexer wurde die Probe auf die Silikagelmembran gegeben und sukzessiv für drei Minuten bei 3000 Umdrehungen pro Minute (rpm) zentrifugiert. Die DNA bindet dadurch an die Membran. Aufgrund hierbei vorherrschender Salz- und pH-Bedingungen können RNA und Nucleinsäure-bindende Proteine nicht binden.

Reinigung der DNA

Zur Eliminierung bestehender Verunreinigungen mit RNA und Proteinen, wurde die Säule mit Guanidin-HCL-Puffer (5ml) versetzt und zentrifugiert (1 Minute bei 5000 rpm). Mit einem ethanolhaltigen Waschpuffer (5ml) wurden die Guanidinsalze wieder entfernt. Das Ethanol wurde unter weiterer Zentrifugation vollständig eliminiert (15 Minuten bei 5000 rpm).

Elution der DNA von der Silikatmembran

Um die DNA von der Membran zu eluieren, erfolgte die Zugabe von 1ml AE Puffer (Tris-Puffer pH>9), eine 5 minütige Inkubation bei Raumtemperatur, und eine weitere Zentrifugation (5 Minuten bei 5000 rpm). Die nur unter sauren Bedingungen an die Membran gebundene DNA löste sich unter Einwirkung des basischen Tris-Puffers ab und verblieb in jenem. Die gewonnene DNA wurde bei -80°C gelagert bzw. für eine PCR verwendet.

3.6.2.2 Bestimmung der DNA-Konzentration

Der genomische Standard für die 8-Punkt Kalibrierung der DNA-Messung wurde als Verdünnungsreihe aus DNA bekannter Konzentration (Clontech Human genomic DNA, 100ng/ μl) hergestellt. Dazu wurde die DNA jeweils 1:1 mit H₂O (bidest.) verdünnt. Die jeweilige Verdünnung dient als Ausgangssubstanz für die nächst niedrigere Konzentration.

Die Konzentration der DNA-Stammlösung übersteigt in der Regel den durch die Standardreihe vorgegebenen Messbereich. Deshalb wurde sie mit Hilfe eines Roboters (Janus Automated Workstation, Perkin Elmer) 1:10 vorverdünnt. Auf eine ABgene 96 well Platte wurde je Probe 5 μl DNA (Stammlösung) und 45 μl H₂O (bidest.) pipettiert.

Herstellung des Picogreen-Gemischs

Nach ca. einstündigem Auftauen der Picogreen-Reagenzien (bei Raumtemperatur unter Lichtschutz) wurde, ebenfalls unter Lichtschutz eine Verdünnung von 1:156 Picogreen mit 1 \times TE hergestellt und mit Hilfe des Vortexers homogenisiert.

Vorbereitung der Messplatte

Auf einer Messplatte (96 well flat bottom plate, black, Greiner) wurden 50 μl H₂O (bidest.) je Vertiefung vorgelegt. Dann wurden in die ersten zwei Spalten der 96 well Platte 5 μl Standard in Duplikaten als Verdünnungsreihe pipettiert (beginnend mit A1 und A2, je 100ng/ μl). Die vorverdünnte DNA wurde in Duplikaten mit einem Volumen von je 5 μl auf die Messplatte pipettiert (beginnend mit A3). Anschließend wurden pro Vertiefung 145 μl Picogreen-Gemisch pipettiert. Die Messplatte wurde abschließend

von einem Gripper in das Fluoreszenzmessgerät transportiert. Alle angegebenen Pipettierschritte wurden mit dem Roboter durchgeführt.

3.6.2.3 Messung der DNA Konzentration

Die Messung der DNA Konzentration wurde im Victor³ 1420 Multilabelcounter durchgeführt. Die Messplatte wurde für 30s in Doppelkreisen geschüttelt. Zur Bestimmung der Fluoreszenz wurde eine Anregungswellenlänge von 485nm verwendet, die Emission wurde bei 540nm gemessen. Die Messzeit pro Vertiefung betrug 0,1s. Es erfolgte die Weiterleitung der Messergebnisse an einen PC (Optiplex GX620 Pentium 4 HAT Dell), dieser berechnete automatisch den Mittelwert aus den Doppelbestimmungen.

Die Kalibrierung der ermittelten Werte erfolgte in Bezug zur Standardkurve (8-Punkte-Kalibrierung). Eine Qualitätsüberprüfung des zugrunde liegenden Standards sollte mindestens einen Pearsonschen Korrelationskoeffizienten von 0,99 ergeben. Dabei wurde eine Genauigkeit von $\pm 10\%$ für die qualitative SNP-Genotypisierung als hinreichend angesehen.

Einstellung der DNA auf 50ng/ μ l

Der optimale Messbereich der angewendeten Methode liegt bei Konzentrationen zwischen 20- und 200ng/ μ l. Um eine Arbeitslösungskonzentration von 50ng/ μ l zu erreichen, wurde das Verhältnis von H₂O (bidest.) zum DNA-Volumen der Ausgangslösung anhand der ermittelten Konzentrationswerte automatisch bestimmt. Mit Hilfe des Roboters wurde eine Konzentrationseinstellung von 500 μ l Arbeitslösung automatisch durchgeführt.

3.7 Genotypisierung

Die Genotypisierung der SNPs rs2976441 und rs11779795 wurden mittels MassArray MALDI TOF MS (*matrix assisted laser desorption/ionisation time of flight mass spectrometry*) der Firma Sequenom im Genetics Research Center München durchgeführt. Das Verfahren beruht auf der Bestimmung molekularer Massen Allel-spezifischer Primerextensionsprodukte. Vor Durchführung dieser Messungen kommt das sogenannte iPLEX-Verfahren zum Einsatz. Dieses beinhaltet zwei wesentliche

Schritte. Neben einer konventionellen PCR des zu untersuchenden Genbereichs wird eine spezialisierte PCR durchgeführt, bei der für jedes Allel eines SNP ein massenspezifisches Produkt entsteht.

Die arbeitstechnischen Schritte sind im Folgenden dargestellt:

3.7.1 Assay-Design

Für die PCR- und Extensionsreaktion benötigte Primer wurden mit Hilfe der Spectro Designer Software (Firma Sequenom, San Diego CA) konzipiert.

Tab. 3-9: SNP-Information

ID	Gen	Chromosom	Position	Allel	Funktion
rs2976441	NEFL	8p21	24863702	C/T	3'Genregion
rs11779795	NEFL	8p21	24894579	G/T	5'Genregion

Tab. 3-10: Primer

SNP ID	PCR-Primer 1	PCR-Primer 2	Fragment länge	Extend Primer
rs2976441	ACGTTGGATGCTGAC CCTTCAGATTTAGGC	ACGTTGGATGACCCA CTAGAAGAGGTCAAG	89 bp	gGGGAGGCT TCCTTTAGA
rs11779795	ACGTTGGATGTTTAC ACATGCTGCAGTACC	ACGTTGGATGTGAGG GAGCACAGTTTCATC	104 bp	AAGATTATG GCTGCCGTGT

Zur Sicherzustellung der Amplifikation der exakten Region im Genom wurden die Primer so konzipiert, dass sie möglichst nahe an dem zu amplifizierenden SNP liegen.

3.7.2 Initiale PCR

3.7.2.1 PCR-Vorbereitung

Mit Hilfe eines Pipettierroboters (Microlab 4000, Fa. Hamilton) wurde der Mastermix (Tab.3-6 + Tab.3-10) auf vier 96 well Platten (Fa. Abgene) verteilt. In jede Vertiefung wurden je 2,5µl der zu genotypisierenden DNA-Probe (5-10ng/µl) zugegeben. Im Anschluss erfolgte die Zusammenführung auf eine 384 well Platte. Abschließend wurde eine Zentrifugation bei 2000rpm für eine Minute (Centrifuge 5810R, Fa. Eppendorf) durchgeführt.

3.7.2.2 PCR-Durchführung

Die PCR wurde in einem Thermocycler durchgeführt (GeneAmp PCR System 9700, Fa. Applied Biosystems). Initial erfolgte eine 15 minütige Denaturierung bei 95°C, anschließend wurden 45 Amplifikationszyklen durchgeführt: Nach einer Denaturierung von 20s bei 94°C wurde durch eine Abkühlung auf 56°C (Annealing) in 30s die Anlagerung der Primer an die Einzelstränge der DNA ermöglicht. Die darauf folgende erneute Temperaturerhöhung auf 72°C entspricht dem Temperaturoptimum der Taq-Polymerase. Unter katalysierender Wirkung dieses Enzyms erfolgt die Anlagerung der Desoxynukleotide, es kommt zur Zweitstrangsynthese (Extension). Nach 3-minütiger Extension stand eine ausreichende Menge an Material zur Verfügung. Die Proben konnten dann bei 4 °C bis zu weiterem Vorgehen gelagert werden.

3.7.2.3 Die Dephosphorylierung überschüssiger dNTPs

Um Störfaktoren für darauf folgende Arbeitsschritte zu minimieren, wurden überschüssige Desoxynukleotidtriphosphate durch Zugabe von Shrimp Alkaline Phosphatase (SAP) dephosphoryliert. In jedes Well wurden 1,530µl Reinstwasser, 0,170µl SAP Puffer (10x) und 0,300µl SAP-Enzym (1U/µl) mit Hilfe des Multimek 96 Pipettierroboters (Fa. BeckmanCoulter) transferiert. Der Ansatz wurde für 20 Minuten bei 37°C erneut im Thermocycler erwärmt. Eine 5-minütige Inkubation bei 85°C inaktivierte anschließend das SAP-Enzym.

3.7.2.4 Extensionsreaktion

Mit der Extensionsreaktion wurde für jedes Allel eines SNPs ein massenspezifisches Primerextensionsprodukt erzeugt. Das Design jedes Extend-Primers wurde so konzipiert, dass er direkt neben dem zu untersuchenden SNP bindet (siehe Tab. 3-10). Die Reaktion wurde mit Didesoxynukleotiden durchgeführt, welche nach Einbau nicht mehr verlängert werden können. Dies führte zu einer Extension der Primer um lediglich eine Base. Es entstanden somit DNA-Fragmente unterschiedlicher Masse. Jedem *well* wurde der sogenannte iPLEX-Cocktail Mix zugegeben (Tab. 3-11).

Tab. 3-11: Zusammensetzung des iPLEX-Cocktails

Reagenz	Volumen	Hersteller
Autokloaviertes H ₂ O	0,755 µl	Sequenom
iPLEX Puffer 10x	0,200 µl	
iPLEX Abbruch-Mix	0,200 µl	
Primer-Mix (7µl:14 µM)	0,800 µl	
i-PLEX Enzyme	0,041 µl	

Die anschließend im Thermocycler durchgeführte Reaktion benötigte nacheinander folgende Konditionen:

- (1) 94°C für 30s: initiale Denaturierung
- (2) 94°C für 5s: Denaturierung
- (3) 52°C für 5s: Annealing
- (4) 80°C für 5s: Extension

Kondition (2), (3) und (4) wurden 40mal durchlaufen. Innerhalb jedes durchlaufenen Zyklus erfolgte eine fünfmalige Wiederholung von Kondition (3) und (4).

Abschließend fand eine finale Extension bei 72°C für 3min statt, dann wurden die Proben wieder auf 4°C abgekühlt.

3.7.3 Massenspektrometrie

3.7.3.1 Vorbereitung

Für die Messung im Massenspektrometer wurden die Proben mittels Clean Resin (Fa. Sequenom) unter Verwendung von *dimple plates* aufbereitet. Damit werden mögliche Störungen durch Alkali- und Erdalkalionen, zu welchen Nukleinsäuren eine hohe Affinität besitzen, minimiert.

Die Reaktionslösung wird dann auf einen SpectroCHIP (Fa. Sequenom) unter Einsatz des MassARRAY Nanodispenser (Fa. Sequenom) transferiert. Die Primerextensionsprodukte werden dazu in eine Matrix aus 3-Hydroxypicolinsäure (3-HPA) eingebracht. Entsprechend der *well* Anzahl stehen auf jedem SpectroCHIP 384 Spots zur Verfügung. Zehn weitere Spots dienen der Kalibrierung des Massenspektrometers. Diese bestehen aus einer Mischung von Oligonukleotiden bekannter Masse.

Mit Hilfe eines Chipschlittens wurde der SpectroCHIP ins MassARRAY MALDI-TOF Massenspektrometer (Fa. Sequenom) eingeführt.

3.7.3.2 Messung

Im MassARRAY MALDI-TOF Massenspektrometer erfolgt die Verdampfung und gleichzeitige Ionisierung des Probematerials mittels eines gepulsten Lasers. Die Ionen werden in einem elektrostatischen Feld beschleunigt und es werden einfach geladene Molekül-Ionen erzeugt, die in die Gasphase übertreten. Die molekulare Masse dieser Ionen lässt sich durch Messung der Flugdauer einer genau definierten feldfreien Driftstrecke zwischen der Beschleunigungselektrode und einem Detektor exakt bestimmen. In Abhängigkeit vom Masse-/Ladungsverhältnis (m/z) der Ionen können sich zwei diskrete Massen ergeben. Ionen mit hohem m/z -Wert wandern langsamer durch die Driftstrecke als Ionen mit niedrigem m/z -Wert. Zur Identifikation des mit der vorliegenden Masse korrelierenden Genotyps wurde die TYPER Analyzer 3.3.0 Software (Fa. Sequenom) eingesetzt.

3.8 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe der Software Statistical package for Social Science (SPSS 14,0, SPSS Inc., Chicago, 2001, <http://www.csub.edu/ssrictrd/SPSS/SPSfirst.htm>).

Die Genotypverteilung wurde bezüglich des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts getestet.

Die Analyse der HAWIE-Skalen wurde mittels ANOVA (*analysis of variance*) für den Gesamt-IQ, den Handlungs-IQ und den Verbal-IQ berechnet, die Faktoren Genotyp bzw. Allel der beiden untersuchten SNPs sowie das Geschlecht (männlich, weiblich) wurden, kontrolliert nach dem Bildungsgrad (gering, mittel, hoch), in die Berechnungen mit einbezogen. Gesamt-, Handlungs- und Verbal-IQ sind im Gegensatz zu den Subtests alterskorrigiert, das Alter wurde deshalb nicht integriert. Es folgte eine explorative Berechnung mittels Manova (*multivariate analysis of variance*), unter Einbezug der elf Subtests des HAWIE-R (Allgemeines Wissen, Zahlennachsprechen, Wortschatztest, Rechnerisches Denken, Allgemeines Verständnis, Gemeinsamkeiten finden, Bilder ergänzen, Bilder ordnen, Mosaik-Test, Figuren legen, Zahlen-Symbol-Test) und der Faktoren Genotyp oder Allel und Geschlecht (männlich, weiblich), kontrolliert nach Alter und dem Bildungsgrad (gering, mittel, hoch). Es wurde ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ festgelegt, $p < 0,1$ wurde als Trend gewertet.

4 Ergebnisse

Im Rahmen der Studie zur Identifikation einer Assoziation zwischen Variationen im Genotyp und kognitiver Leistung wurden der Intelligenztest HAWIE-R (Hamburg-Wechsler Intelligenztest für Erwachsene), sowie eine Genotypisierung der beiden zu untersuchenden Polymorphismen durchgeführt. Es nahmen insgesamt 1210 Personen an der Studie teil, wovon 552 (45,6%) männlich und 658 (54,4%) weiblich waren. Von allen teilnehmenden Testpersonen wurde SNP rs2976441 bei 1166 Probanden-, und SNP rs11779795 bei 1210 Probanden genotypisiert. Als Covariable wurde die Schulbildung in den Berechnungen berücksichtigt. 23,5% der Probanden hatten einen Hauptschulabschluss, 33,1% einen Realschulabschluss und 43,5% absolvierten einen Gymnasialabschluss.

4.1 Analyse des NEFL Polymorphismus rs2976441

Es wurde die Assoziation der genetischen Variation rs2976441 in der 3'-Region des NEFL Gens mit der erbrachten Leistung beim HAWIE-R untersucht. Gewertet wurden 1166 deutsche Testpersonen aus dem Großraum München.

Betrachtet wurden die Assoziation zwischen den Allelen (C/T) bzw. Genotypen (CC/CT/TT) und den Ergebnissen im Intelligenztest HAWIE-R (Gesamt-IQ, Verbal-IQ, Handlungs-IQ sowie die Einzelergebnisse in den 11 Subtests).

4.1.1 Allelfrequenz

Untersucht wurde die Assoziation zwischen den Allelen C und T und kognitiver Leistung. Die kognitiven Fähigkeiten wurden mit dem HAWIE-R untersucht, es wurden Gesamt-Intelligenzquotient, Verbal-Intelligenzquotient, Handlungs-Intelligenzquotient und die 11 Subskalen betrachtet. Etwa zwei Drittel der männlichen und weiblichen Studienteilnehmer besaßen das T-Allel. Tabelle 4-1 stellt die Allelverteilung dar.

Ergebnisse

Tab. 4-1: Darstellung der Allelverteilung des NEFL-Polymorphismus rs2976441

Probanden	Allel C N(%)	Allel T N(%)	Gesamt
männlich	394 (36,9)	674 (63,1)	1068
weiblich	499 (39,5)	765 (60,5)	1264
Gesamt	893(38,3)	1439 (61,7)	2332

Nachfolgende Tabellen zeigen die Assoziation der Allelverteilung des Polymorphismus rs2976441 mit den Ergebnissen des HAWIE-R Intelligenztests. Es wurden Gesamt-, Handlungs- und Verbal-IQ, sowie die 11 Subskalen berechnet. Das Allel zeigte keinen Haupteffekt ($F=0,867$; $df=11/2316$; $p=0,573$).

Tab. 4-2: Resultate des HAWIE-R (Gesamt-, Verbal-, Handlungs-IQ) assoziiert mit der Allelverteilung des NEFL-Polymorphismus rs2976441

	Allel rs2976441			
	C (n=893)	T (n=1439)		
	MW (SD)	MW (SD)	F	p
HAWIE-R *				
Gesamt-IQ	113,58 (15,03)	114,51 (14,76)	1,40	0,237
Verbal-IQ	111,30 (14,35)	112,61 (14,10)	3,90	0,048
Handlungs-IQ	111,72 (14,90)	112,04 (14,28)	0,05	0,818

*df: 1/2327

Die Assoziation der Allelverteilung mit dem Verbal-IQ zeigte signifikante Werte ($F=3,90$, $df=1/2327$, $p=0,048$). T-Allel Träger zeigten im Mittelwert bessere Leistungen als C-Allel Träger. Abbildung 4-1 stellt das signifikante Ergebnis des Verbal-IQs dar und verdeutlicht die bessere Leistung der T-Allel Träger.

Ergebnisse

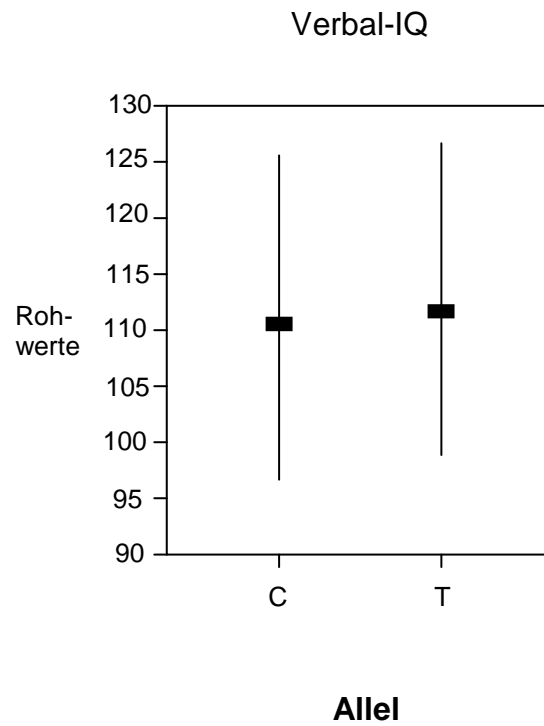


Abb. 4-1: HAWIE-R Verbal-IQ (MW \pm Standardabweichung) assoziiert mit der Allelverteilung des rs2976441 Polymorphismus im NEFL-Gen

Ergebnisse

Tab.4-3: Resultate der der HAWIE-R Subtests assoziiert mit der Allelverteilung des NEFL-Polymorphismus rs2976441

	Allel rs2976441			
	C (n=893)	T (n=1439)		
	MW (SD)	MW (SD)	F	p
Verbaltests (Rohwerte)**				
Allgemeines Wissen	16,81 (4,10)	17,23 (3,79)	4,53	0,033
Zahlen nachsprechen	14,65 (4,02)	14,70 (3,97)	0,10	0,758
Wortschatztest	22,57 (5,14)	22,85 (5,08)	1,00	0,319
Rechnerisches Denken	13,67 (3,47)	13,90 (3,40)	1,18	0,278
Allgemeines Verständnis	21,44 (3,25)	21,57 (3,20)	0,35	0,555
Gemeinsamkeiten finden	26,17 (4,17)	26,56 (4,03)	4,84	0,028
Handlungstests (Rohwerte)**				
Bilder ergänzen	13,46 (2,76)	13,49 (2,78)	0,00	0,979
Bilder ordnen	27,64 (11,91)	28,25 (11,74)	1,93	0,164
Mosaiktest	32,84 (9,75)	32,93 (9,38)	0,00	0,994
Figuren legen	31,03 (5,98)	31,14 (5,87)	0,012	0,743
Zahlen-Symbol-Test	55,19 (13,56)	55,05 (13,24)	0,02	0,901

**df: 1/2326

Die Assoziation der Allelverteilung mit den zwei Subtests des Verbalteils Allgemeines Wissen ($F=4,53$, $df=1/2326$, $p=0,033$) und Gemeinsamkeiten finden ($F=4,84$, $df=2326$, $p=0,028$) erwies sich als signifikant. T-Allel Träger erlangten in beiden Subtests im Mittel höhere Rohwerte als C-Allel Träger. Abbildung 4-2 und 4-3 stellen die signifikanten Ergebnisse beider Untertest dar und verdeutlichen die bessere Leistung der T-Allel Träger.

Ergebnisse

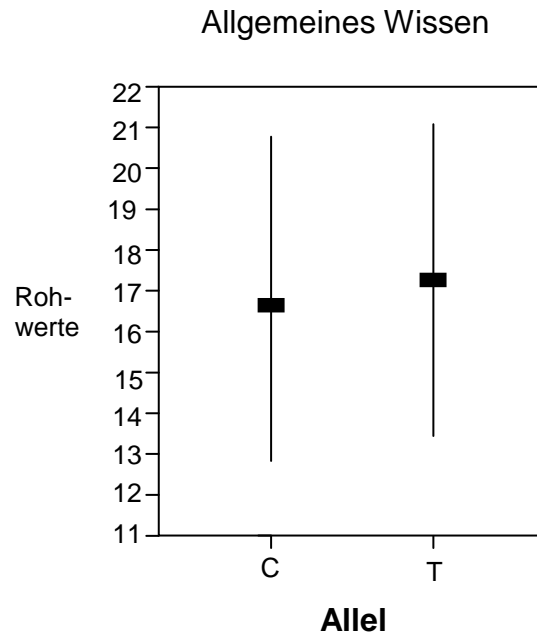


Abb. 4-2: HAWIE-R Allgemeines Wissen (MW \pm Standardabweichung) assoziiert mit der Allelverteilung des rs2976441 Polymorphismus im NEFL-Gen

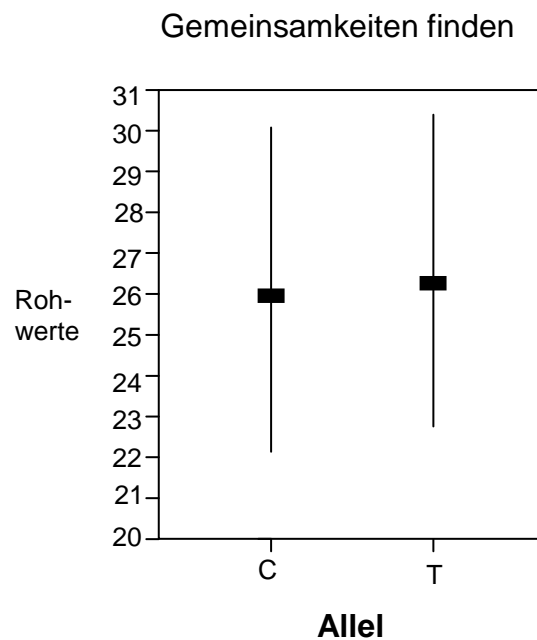


Abb. 4-3: HAWIE-R Gemeinsamkeiten finden (MW \pm Standardabweichung) assoziiert mit der Allelverteilung des rs2976441 Polymorphismus im NEFL-Gen

4.1.2 Genotyp

Untersucht wurde die Assoziation der kognitiven Leistung und dem Genotyp des rs2976441 Polymorphismus im NEFL-Gen.

Die Verteilung der Genotypen war im Hardy-Weinberg-Equilibrium: ($\chi^2=0,765$, $df=2$, $p=0,68$). Genotyp C/C war mit 15,5% eher selten, die Genotypen C/T und T/T waren mit 45,5% und 39% annähernd gleich häufig.

Tab. 4-4: Darstellung der Genotypverteilung des NEFL-Polymorphismus rs2976441

Probanden	Genotyp (C/C) N(%)	Genotyp (C/T) N(%)	Genotyp (T/T) N(%)	Gesamt N
männlich	76 (14,2)	242 (45,3)	216 (40,4)	534
weiblich	105 (16,6)	289 (45,7)	238 (37,7)	632
gesamt	181 (15,5)	531 (45,5)	454 (38,9)	1166

Folgenden Tabellen zeigen die Assoziation der Genotypverteilung des Polymorphismus rs2976441 mit den Ergebnissen des HAWIE-R Intelligenztests. Es wurden Gesamt-, Handlungs- und Verbal-IQ, sowie die 11 Subskalen berechnet. Der Genotyp zeigte keinen Haupteffekt ($F=0,845$; $df=22/2298$; $p=0,670$).

Ergebnisse

Tab. 4-5: Resultate des HAWIE-R (Gesamt-, Verbal-, Handlungs-IQ) assoziiert mit der Genotypverteilung des NEFL-Polymorphismus rs2976441

	Genotyp rs2976441				
	CC N=181	CT N= 531	TT N=454		
	MW (SD)	MW (SD)	MW (SD)	F	p
HAWIE-R *					
Gesamt-IQ	113,66 (15,58)	113,53 (14,68)	115,09 (14,79)	0,76	0,470
Verbal-IQ	111,07 (14,93)	111,47 (13,98)	113,28 (14,14)	1,98	0,139
Handlungs-IQ	112,25 (15,57)	111,35 (14,44)	112,44 (14,19)	0,35	0,707

*df: 2/1159

Die Assoziation der Genotypverteilung mit dem Gesamt-IQ, Verbal-IQ und Handlungs-IQ zeigte keine signifikanten Werte.

Ergebnisse

Tab. 4-6: Resultate der HAWIE-R-Subtests, assoziiert mit der Genotypverteilung des NEFL- Polymorphismus rs2976441

	Genotyp rs2976441				
	CC N=181	CT N= 531	TT N=454		
	MW (SD)	MW (SD)	MW (SD)	F	p
Verbaltests (Rohwerte)**					
Allgemeines Wissen	16,52 (4,34)	17,00 (3,91)	17,36 (3,72)	2,36	0,095
Zahlen nach-sprechen	14,88 (4,12)	14,49 (3,94)	14,83 (3,99)	0,38	0,687
Wortschatztest	22,74 (4,97)	22,45 (5,25)	22,32 (4,79)	1,02	0,362
Rechnerisches Denken	13,44 (3,62)	13,82 (3,35)	13,94 (3,24)	0,80	0,449
Allgemeines Verständnis	21,43 (3,40)	21,45 (3,15)	21,65 (3,22)	0,18	0,843
Gemeinsamkeiten finden	25,97 (4,34)	26,32 (4,05)	26,70 (4,02)	2,83	0,060
Handlungstests (Rohwerte)**					
Bilder ergänzen	13,50 (2,66)	13,43 (2,83)	13,53 (2,75)	0,02	0,984
Bilder ordnen	28,30 (11,96)	27,19 (11,87)	28,87 (11,63)	1,65	0,192
Mosaiktest	33,03 (9,90)	32,71 (9,67)	33,06 (9,21)	0,09	0,914
Figuren legen	31,18 (6,12)	30,93 (5,88)	31,26 (5,87)	0,05	0,952
Zahlen-Symbol-Test	56,27 (13,49)	54,46 (13,58)	55,39 (13,03)	0,39	0,677

**df: 2/1158

Die Subtests Allgemeines Wissen ($F=2,36$, $df=2/1158$, $p=0,095$) und Gemeinsamkeiten finden ($F=2,826$, $df=2/1158$, $p=0,060$) zeigten einen Trend.

In den folgenden Abbildungen wird verdeutlicht, dass Probanden mit dem Genotyp T/T im Subtest Allgemeines Wissen und im Subtest Gemeinsamkeiten finden bessere Ergebnisse erzielten als Homozygote für das C-Allel. Träger des heterozygoten Genotyps C/T zeigten Leistungen auf dem Niveau des Genotyps T/T.

Ergebnisse

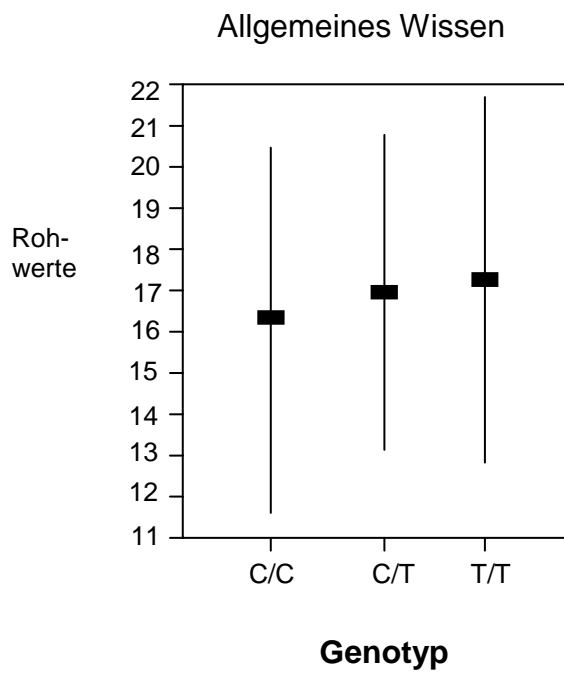


Abb. 4-4: HAWIE-R Allgemeines Wissen (MW \pm Standardabweichung) assoziiert mit der Genotypverteilung des rs2976441 Polymorphismus im NEFL-Gen

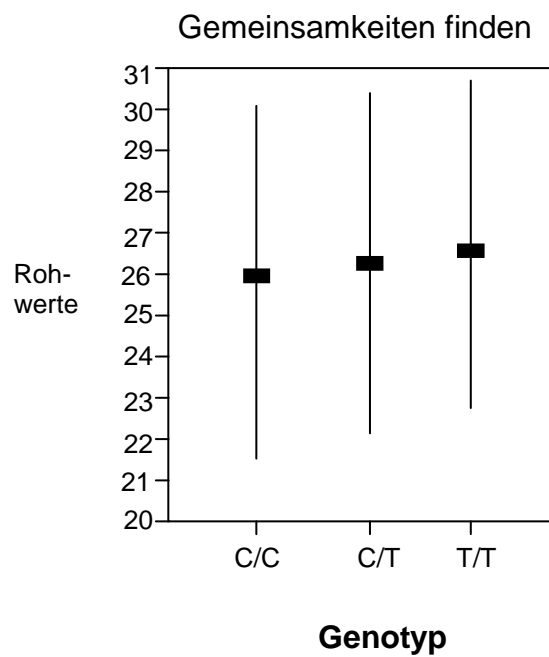


Abb. 4-5: HAWIE-R Gemeinsamkeiten finden (MW \pm Standardabweichung) assoziiert mit der Genotypverteilung des rs2976441 Polymorphismus im NEFL-Gen

4.2 Analyse des NEFL Polymorphismus rs11779795

Es wurde die Assoziation der genetischen Variation rs11779795 in der 5'-Genregion des NEFL Gens mit der erbrachten Leistung beim HAWIE-R untersucht. Gewertet wurden 1210 deutsche Testpersonen aus dem Großraum München.

Betrachtet wurde die Assoziation zwischen den Allelen (G/T) bzw. Genotypen (GG/GT/TT) und den Ergebnissen im Intelligenztest HAWIE-R (Gesamt-IQ, Verbal-IQ, Handlungs-IQ sowie die Einzelergebnisse in den 11 Subtests).

4.2.1 Allelfrequenz

Untersucht wurde die Assoziation zwischen den Allelen G und T und kognitiver Leistung. Die kognitiven Fähigkeiten wurden mit dem HAWIE-R untersucht, es wurden Gesamt-Intelligenzquotient, Verbal-Intelligenzquotient, Handlungs-Intelligenzquotient und die 11 Subskalen betrachtet. Etwa zwei Drittel der männlichen und weiblichen Studienpopulation besaßen das T-Allel. Tabelle 4-7 stellt die Allelverteilung dar.

Tab. 4-7: Darstellung der Allelverteilung des NEFL Polymorphismus rs11779795

Probanden	Allel G N(%)	Allel T N(%)	Gesamt
männlich	275 (24,9)	847 (76,7)	1104
weiblich	308 (23,4)	1008 (76,6)	1316
Gesamt	565 (23,3)	1855 (76,7)	2420

Nachfolgende Tabellen zeigen die Assoziation der Allelverteilung des Polymorphismus rs11779795 mit den Ergebnissen des HAWIE-R Intelligenztests. Es wurden Gesamt-, Handlungs- und Verbal-IQ, sowie die 11 Subskalen berechnet. Das Allel zeigte keinen Haupteffekt ($F=0,714$; $df=11/2404$; $p=0,726$).

Ergebnisse

Tab. 4-8: Resultate des HAWIE-R (Gesamt-, Verbal-, Handlungs-IQ) assoziiert mit der Allelverteilung des NEFL- Polymorphismus rs11779795

	Allel rs11779795			
	G (n=565)	T (n=1855)		
	MW (SD)	MW (SD)	F	p
HAWIE-R *				
Gesamt-IQ	113,13 (15,68)	114,47 (14,69)	1,87	0,172
Verbal-IQ	110,79 (14,36)	112,61 (14,10)	5,56	0,018
Handlungs-IQ	111,32 (15,95)	112,01 (14,23)	0,26	0,6

*df: 1/2415

Die Assoziation der Allelverteilung mit dem Verbal-IQ zeigte signifikante Werte ($F=5,56$, $df=1/2415$, $p=0,018$). T-Allel Träger zeigten im Mittelwert bessere Leistungen als G-Allel Träger. Abbildung 4-6 stellt das signifikante Ergebnis des Verbal-IQs dar und verdeutlicht die bessere Leistung der T-Allel Träger.

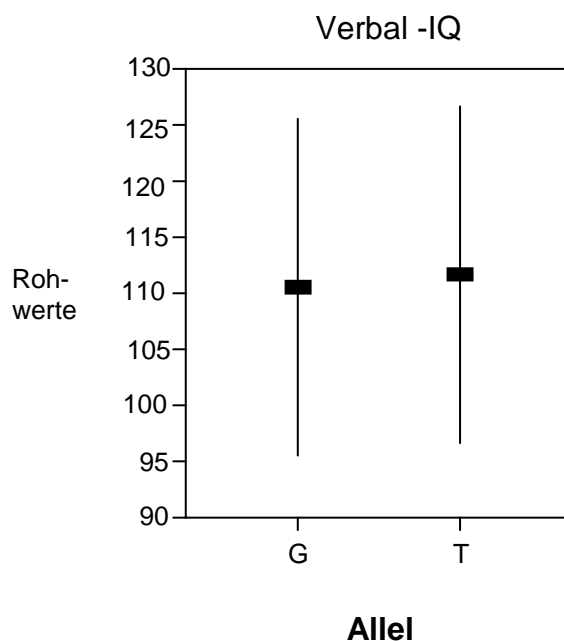


Abb. 4-6: HAWIE-R Verbal- IQ (MW \pm Standardabweichung) assoziiert mit der Allelverteilung des rs11779795 Polymorphismus im NEFL-Gen

Ergebnisse

Tab. 4-9: Resultate der HAWIE-R Subtests assoziiert mit der Allelverteilung des NEFL-Polymorphismus rs11779795

	Allel rs11779795			
	G (n=565)	T (n=1855)		
	MW (SD)	MW (SD)	F	p
Verbaltests (Rohwerte)**				
Allgemeines Wissen	16,85 (4,11)	17,19 (3,81)	2,00	0,157
Zahlen nachsprechen	14,55 (3,97)	14,73 (3,97)	0,16	0,690
Wortschatztest	22,29 (5,33)	22,92 (5,06)	4,97	0,026
Rechnerisches Denken	13,62 (3,46)	13,85 (3,30)	0,98	0,318
Allgemeines Verständnis	21,33 (3,29)	21,60 (3,12)	1,64	0,201
Gemeinsamkeiten finden	26,05 (4,14)	26,54 (4,07)	4,12	0,043
Handlungstests (Rohwerte)**				
Bilder ergänzen	13,38 (2,80)	13,50 (2,78)	0,12	0,727
Bilder ordnen	27,21 (12,34)	28,20 (11,63)	1,57	0,211
Mosaiktest	32,36 (10,15)	32,87 (9,40)	0,12	0,727
Figuren legen	31,64 (6,36)	31,07 (5,86)	0,80	0,371
Zahlen-Symbol-Test	54,84 (13,89)	55,29 (13,30)	0,07	0,791

**df: 1/2414

Die Assoziation der Allelverteilung mit den zwei Subtests des Verbalteils Wortschatztest ($F=4,97$, $df=1/2414$, $p=0,026$) und Gemeinsamkeiten finden ($F=4,12$, $df=2414$, $p=0,043$) erwies sich als signifikant. In beiden Subtests (Wortschatztest, Gemeinsamkeiten finden) erlangten T-Allel Träger im Mittel höhere Rohwerte als G-Allel-Träger. Abbildung 4-7 und 4-8 stellen die signifikanten Ergebnisse beider Untertest dar und verdeutlichen die bessere Leistung der T-Allel Träger.

Ergebnisse

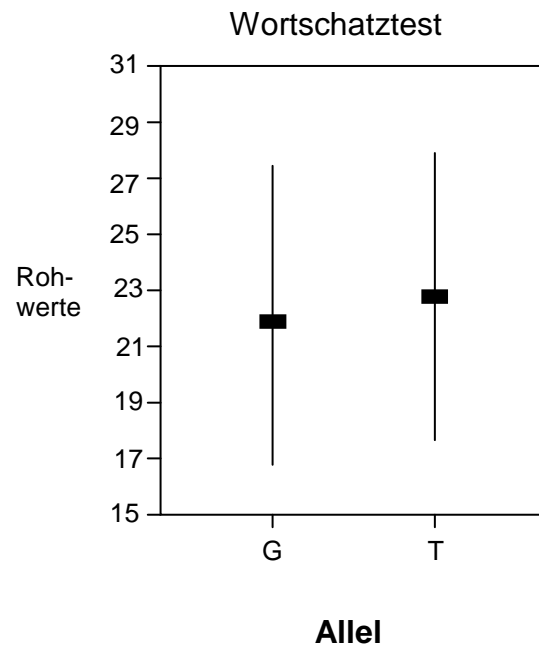


Abb. 4-7: HAWIE-R Wortschatztest (MW \pm Standardabweichung) assoziiert mit der Allelverteilung des rs11779795 Polymorphismus im NEFL-Gen

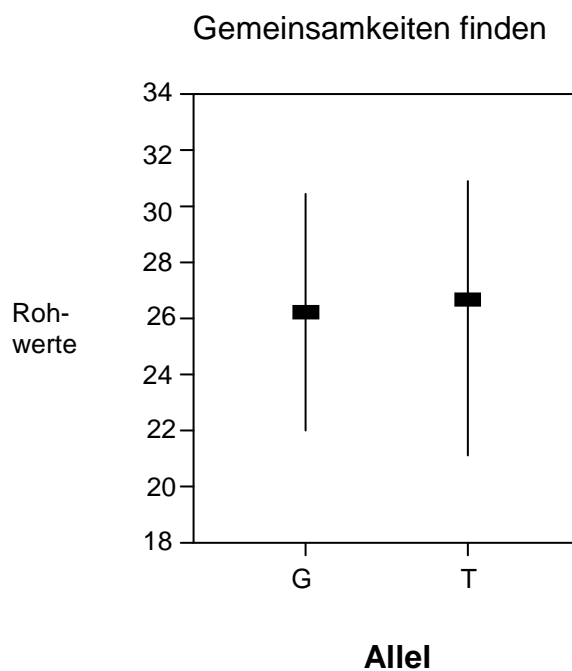


Abb. 4-8: HAWIE-R Gemeinsamkeiten finden (MW \pm Standardabweichung) assoziiert mit der Allelverteilung des rs11779795 Polymorphismus im NEFL-Gen

4.2.2 Genotyp rs11779795

Untersucht wurde die Assoziation der kognitiven Leistung und dem Genotyp des rs11779795 Polymorphismus im NEFL-Gen.

Die Verteilung der Genotypen war im Hardy-Weinberg-Equilibrium: ($\chi^2=5,7$, $df=2$, $p=0,06$). Genotyp G/G war mit 7,3% selten, Genotyp G/T mit 60,6% am häufigsten vertreten.

Tab.4-10: Darstellung der Genotypverteilung des NEFL Polymorphismus rs11779795

Probanden	Genotyp (G/G) N(%)	Genotyp (G/T) N(%)	Genotyp (T/T) N(%)	Gesamt N
männlich	41 (7,4)	175 (31,7)	336 (60,9)	552
weiblich	47 (7,1)	214 (32,5)	397 (60,3)	658
gesamt	88 (7,3)	389 (32,1)	733 (60,6)	1210

Nachfolgende Tabellen zeigen die Assoziation der Genotypverteilung des Polymorphismus rs11779795 mit den Ergebnissen des HAWIE-R Intelligenztests. Es wurden Gesamt-, Handlungs- und Verbal-IQ, sowie die 11 Subskalen berechnet. Der Genotyp zeigte keinen Haupteffekt ($F=0,944$; $df=22/2386$; $p=0,536$).

Ergebnisse

Tab. 4-11: Resultate des HAWIE-R (Gesamt-, Verbal-, Handlungs-IQ) assoziiert mit der Genotypverteilung des NEFL- Polymorphismus rs11779795

	Genotyp rs11779795				
	GG (N=88)	GT N=389)	TT (N=733)		
	MW (SD)	MW (SD)	MW (SD)	F	p
HAWIE-R *					
Gesamt-IQ	112,84 (17,50)	113,26 (14,83)	114,79 (14,65)	0,89	0,412
Verbal-IQ	110,31 (15,07)	111,01 (14,06)	113,03 (14,10)	2,61	0,074
Handlungs-IQ	110,44 (18,46)	111,71 (14,71)	112,08 (14,11)	0,34	0,721

*df: 2/1203

Die Assoziation der Genotypverteilung mit dem Gesamt-IQ, Verbal-IQ und Handlungs-IQ zeigte einen Trend für den Verbal-IQ ($F=2,61$; $df=2/1203$; $p=0,074$). Probanden mit dem Genotyp T/T zeigten im Mittel bessere Ergebnisse.

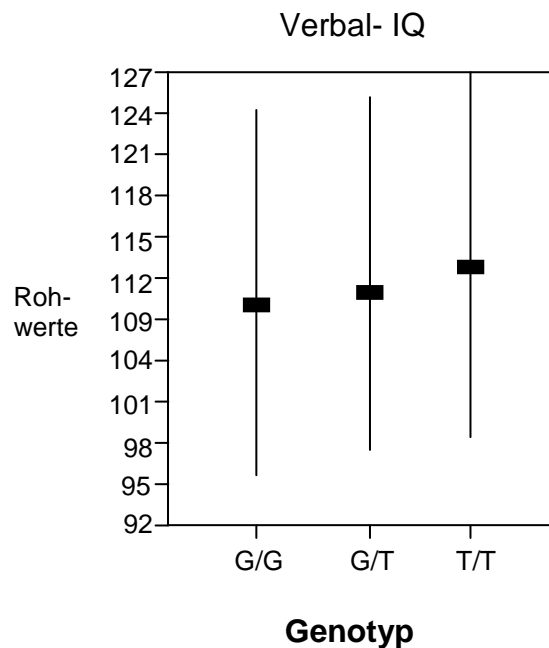


Abb. 4-9: HAWIE-R Verbal- IQ (MW \pm Standardabweichung) assoziiert mit der Genotypverteilung des rs11779795 Polymorphismus im NEFL-Gen

Ergebnisse

Tab. 4-12: Resultate der HAWIE-R Subtests assoziiert mit der Genotypverteilung des NEFL-Polymorphismus rs11779795

	Genotyp rs11779795				
	GG (N=88)	GT (N=389)	TT (N=733)		
	MW(SD)	MW(SD)	MW(SD)	F	p
Verbaltests (Rohwerte)**					
Allgemeines Wissen	16,86 (4,31)	16,85 (4,03)	17,28 (3,75)	1,26	0,283
Zahlen nachsprechen	14,93 (3,85)	14,38 (4,02)	14,83 (3,96)	,965	0,381
Wortschatztest	22,28 (5,19)	22,30 (5,41)	22,08 (4,95)	2,71	0,067
Rechnerisches Denken	13,23 (3,59)	13,80 (3,40)	13,79 (3,28)	1,23	0,273
Allgemeines Verständnis	21,22 (3,46)	21,38 (3,21)	21,66 (3,10)	0,78	0,458
Gemeinsamkeiten finden	25,85 (4,70)	26,14 (3,88)	26,64 (4,12)	1,90	0,149
Handlungstests (Rohwerte)**					
Bilder ergänzen	13,35 (2,90)	13,39 (2,77)	13,53 (2,79)	0,09	0,913
Bilder ordnen	27,82 (12,95)	26,94 (12,08)	28,53 (11,50)	1,08	0,340
Mosaiktest	31,59 (10,95)	32,71 (9,78)	32,91 (9,30)	1,72	0,179
Figuren legen	30,55 (6,63)	30,68 (6,26)	31,19 (5,75)	0,40	0,668
Zahlen-Symbol-Test	55,33 (14,46)	54,62 (13,66)	55,47 (13,20)	0,04	0,961

** df:2/1202

Es ergab sich ein Trend in dem Subtests Wortschatztest ($F=2,71$, $df=2/1202$, $p=0.067$). Probanden mit den Genotypen G/G und G/T schnitten im Subtest Wortschatztest im Durchschnitt besser ab als Homozygote für das T-Allel.

Ergebnisse

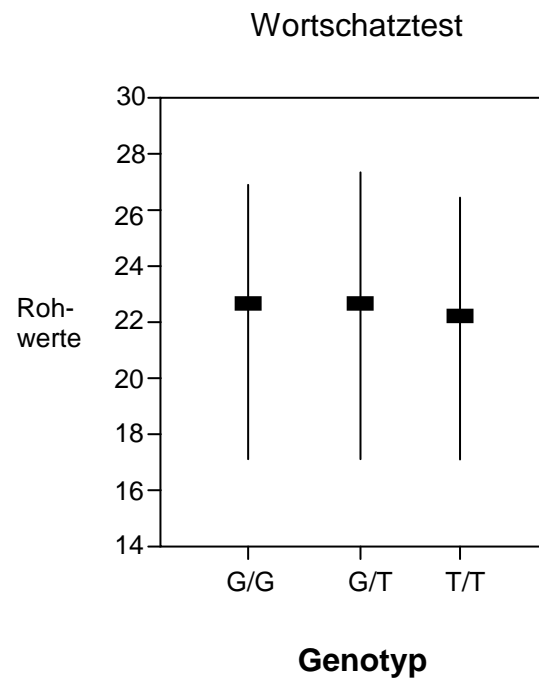


Abb. 4-10: HAWIE-R Wortschatztest (MW \pm Standardabweichung) assoziiert mit der Genotypverteilung des rs11779795 Polymorphismus im NEFL-Gen

5 Diskussion

5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Kognitive Fähigkeiten werden sowohl von Umweltfaktoren, als auch von genetischen Faktoren beeinflusst, daher stellt die Messung des komplexen Konstrukts Intelligenz eine Aufgabe mit erschwerten Bedingungen dar. Bei einer Assoziationsstudie können mit Hilfe genetischer Marker (SNPs oder RFLPs) Gene detektiert werden, die in Zusammenhang mit kognitiven Fähigkeiten stehen.

Zur effizienten Durchführung einer Assoziationsstudie ist die richtige Auswahl der zu untersuchenden SNPs entscheidend. Da Neurofilamente einen entscheidenden Anteil an Gehirnfunktionen haben die mit Intelligenz in Verbindung stehen, wurde in der vorliegenden Arbeit nach einer Assoziation natürlich auftretender Variationen des NEFL-Gens mit kognitiven Fähigkeiten gesucht.

Dazu wurde eine Genotypisierung durchgeführt und zwei Polymorphismen des NEFL-Gens, (rs11779795 und rs2976441) wurden getrennt nach Allel- und Genotypfrequenz auf eine Assoziation mit den Rohpunktwerten der 11 HAWIE-R-Untertests sowie mit dem Verbal-, Handlungs- und Gesamt-Intelligenzquotienten untersucht.

Die Untersuchung des Allels des Polymorphismus rs2976441 zeigte signifikante Werte. In Bezug auf den Verbal-Intelligenzquotienten schnitten T-Allel-Träger signifikant besser ab als C-Allel-Träger. In den Subskalen Allgemeines Wissen und Gemeinsamkeiten finden erlangten T-Allel-Träger signifikant besseren Ergebnisse.

Die Untersuchung der drei Genotypen C/C, C/T und T/T des Polymorphismus rs2976441 zeigte einen Trend in den Untertests Allgemeines Wissen und Gemeinsamkeiten finden. T/T-Homozygote schnitten besser ab als C/T-Heterozygote. C/C-Heterozygote zeigten die schlechtesten Ergebnisse.

Auch die Untersuchung des Allels des Polymorphismus rs11779795 zeigte signifikante Ergebnisse. Es ergab sich eine Signifikanz in Bezug auf den Verbal-Intelligenzquotienten. T-Allel-Träger schnitten signifikant besser ab als G-Allel-Träger. In den Subskalen Wortschatztest und Gemeinsamkeiten erlangten T-Allel-Träger signifikant bessere Ergebnisse.

Die Untersuchung der drei Genotypen G/G, G/T und T/T des Polymorphismus rs11779795 ergab einen Trend in Bezug auf den Verbal-Intelligenzquotienten. T/T-Homozygote schnitten besser ab als G/T-Heterozygote. G/G-Homozygote zeigten die schlechtesten Ergebnisse. Im Bezug auf die 11 Untereinheiten zeigte sich hinsichtlich des Genotyps ein Trend im Wortschatztest. Hier schnitten G/T-Heterozygote besser ab als G/G-Homozygote. Hier zeigten T/T-Homozygote die schlechtesten Ergebnisse (Tab. 5-1).

5.2 Diskussion der Methoden

5.2.1 Ethnische Abstammung

Die ethnische Abstammung spielt bei Assoziationsstudien eine bedeutende Rolle und stellt deshalb Gegenstand der Diskussion dar.

Kognitive Fähigkeiten entwickeln sich durch eine Interaktion zwischen genetischen Faktoren und Umwelteinflüssen (Toga & Thompson 2005). Genetische Grundlagen spielen für die Höhe des Intelligenzquotienten eines Individuums eine bedeutende Rolle. Ca. 50% der Varianz allgemeiner kognitiver Fähigkeiten ist genetisch bedingt (Plomin et al., 2001), die Heritabilität des allgemeinen Intelligenzfaktors (g) steigt von ca. 30% im Laufe des Lebens auf ca. 80% annähernd linear an (Bergen et al., 2007; Deary et al., 2009; Polderman et al., 2006).

In dieser Studie wurden nur Studienteilnehmer eingeschlossen, die mindestens bis zu den Großeltern deutscher Abstammung waren. Damit wurde versucht den Faktor der Allel- und Genotypabweichung verschiedener ethnischer Gruppen so klein wie möglich zu halten. Alle Studienteilnehmer wurden per Zufallsverfahren aus der Münchner Bevölkerung ausgewählt.

Der NEFL-Polymorphismus rs2976441 zeigt in der europäischen Bevölkerung (Nord- und Westeuropa) eine Dominanz des T-Allels (67,4%) gegenüber dem C-Allel (32,6%). Der Genotyp C/C ist der am seltensten vorkommende Genotyp (10,7%). In der hier vorliegenden Studie wiesen 61,7% aller Probanden das T-Allel auf (männlich 63,1%, weiblich 60,5%). Der Genotyp C/C war mit 15,5% am seltensten vorkommend (männlich 14,2%, weiblich 16,6%).

In der chinesischen und asiatischen Bevölkerung zeigt sich eine ähnliche Aufteilung (T= 53,5%-65,1%), bei der afrikanischen Bevölkerung hingegen ist das C-Allel

(76,5%) wesentlich häufiger vertreten als das T-Allel (23,5%), der Genotyp C/C (58,4%) kommt unter diesen Einwohnern am häufigsten vor.

Der NEFL-Polymorphismus rs11779795 zeigt in der europäischen Bevölkerung eine deutliche Dominanz des T-Allels (81,4%) gegenüber des G-Allels (18,6%). Der Genotyp G/G ist der am seltensten vorkommende Genotyp (3,5%). Die Stichproben der hier vorliegenden Studie ergaben eine Dominanz des T-Allels von 76,7% (männlich 76,7%; weiblich 76,6%). Der Genotyp G/G zeigte sich bei 7,3% der untersuchten Studienteilnehmer.

Die asiatische und chinesische Bevölkerung zeigt für diesen SNP eine noch drastischere Aufteilung (T=95,3%-97,7%), das G-Allel ist im Verhältnis zur europäischen Bevölkerung kaum vertreten (4,7%-2,3%). Der Genotyp G/G kommt nicht vor. Die afrikanische Bevölkerung weist eine Dominanz des G-Allels auf (55,8%), der Genotyp T/T ist mit 16,8% am geringsten vertreten (www.hapmap.org).

Die in dieser Studie prozentualen Anteile der Allelverteilung entsprechen den Ergebnissen der *hapmap*-Untersuchungen an einer Stichprobe europäischer Völker. Der Vergleich mit anderen ethnischen Gruppierungen zeigt klare Differenzen und macht die Notwendigkeit einer populationsspezifischen Interpretation von Ergebnissen aus Assoziationsstudien deutlich.

5.2.2 Rekrutierungsverfahren und Einschlusskriterien

Die Ergebnisse einer Assoziationsstudie hängen entscheidend von Art und Durchführung des Diagnose- bzw. Rekrutierungsverfahrens, sowie der sorgfältigen Auswahl von Ausschlusskriterien ab. Differenzen in den Diagnoseverfahren oder inkonsequente Anwendung festgelegter Ausschlusskriterien können Auswirkungen auf Testergebnisse der kognitiven Funktionen haben. Neurodegenerative- oder psychiatrische Erkrankungen zeigen z.B. auch schon im prämorbidem Zustand Einfluss auf kognitive Fähigkeiten (Almkvist & Tallberg, 2009; Cervilla et al., 2004). Dies macht deutlich, dass eine konsequente und strenge Kontrolle und Einhaltung festgelegter Kriterien im Hinblick auf Validität und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse unabdingbar sind.

In dieser Studie wurden bei 1210 neuropsychiatrisch gesunden Probanden die Polymorphismen rs2976441 und rs11779795 im NEFL-Gen untersucht. Zur Erfassung einer homogenen Gruppe wurden alle Studienteilnehmer sorgfältig

rekrutiert. Sowohl Probanden als auch deren Blutsverwandtschaft ersten Grades durften keinerlei psychiatrische oder neurologische Erkrankungen oder Auffälligkeiten aufweisen. Die Rekrutierung erfolgte in einem mehrstufigen Verfahren. Im ersten Schritt wurden Studienteilnehmer per Zufallsprinzip aus der Allgemeinbevölkerung Münchens ausgewählt, damit ergab sich eine im geographisch begrenzten Raum repräsentative Stichprobe. Es erfolgte die Selektion anhand genau festgelegter Ausschlusskriterien. Potentielle Probanden wurden zur Teilnahme an der Studie eingeladen. Die Zustimmung oder Ablehnung einer Studienteilnahme stellt einen potentiellen Bias dar, da Ergebnisse des Probandenkollektivs von Ergebnissen des Personenkollektivs die nicht zur Teilnahme bereit waren differieren könnten.

Nach Zustimmung des Probanden zur Studienteilnahme erfolgte das mehrstufige Ausschlussverfahren welches ein telefonisches Screening, eine schriftliche Anamnese und verschiedene neuropsychiatrische Tests (SKID, FHAM, LEBI) beinhaltete. Potentielle Fehler durch nicht wahrheitsgemäße Angaben der Probanden wurden über mehrmaliges Überprüfen gemachter Angaben versucht gering zu halten, stellen jedoch eine Fehlerquelle dar.

Des Weiteren wurden alle Probanden körperlich untersucht, auf neurologische Auffälligkeiten wurde dabei geachtet. Probanden die älter als 60 Jahre alt waren absolvierten den MMST. Der von Folstein und Kollegen 1975 entwickelte Test stellt ein Schnell-Screening Verfahren auf Demenz dar. Merkfähigkeit, Aufmerksamkeit, Sprache und Orientierung werden grob überprüft. Der MMST wird als zuverlässiges Hilfsmittel bei der Diagnose von Demenz und Alzheimer im klinischen Alltag eingesetzt (Folstein et al., 1975).

5.2.3 Intelligenzdiagnostik

Zur eigentlichen Messung der Intelligenz wurde bei allen teilnehmenden Probanden der Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991 (HAWIE-R) durchgeführt. Der Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene ist die auf Deutsch übersetzte und an deutschsprachigen Testteilnehmern normierte Adaptation des ursprünglich englischsprachigen Intelligenztests *Wechsler Adult Intelligence Scale* (WAIS) von David Wechsler. Das Verfahren ist eine der ältesten Testbatterien zur Messung der menschlichen Intelligenz. Der HAWIE-R überprüft vor allem die allgemeine Intelligenz *g* und stellt nach wie vor das meist benutzte Instrument zur

Messung dieser dar (Gläscher et al., 2009). Des Weiteren wird der HAWIE-R auch sehr verbreitet zur Beurteilung neuropsychologischer Beeinträchtigungen benutzt (Rabin et al., 2005). Seine psychometrischen Eigenschaften werden als exzellent beschrieben und eine sehr hohe Reliabilität sowohl in Gesunden wie auch klinischen Populationen ist bewiesen (The Psychological Corporation, 1997; Ryan & Cohen, 2003; Zhu et al., 2001a). Die Testbatterie besteht aus 11 Untertests (Subtests) welche sich in einen Verbalteil und einen Handlungsteil gruppieren lassen. Der Verbalteil überprüft vor allem durch Lernprozesse angehäuften Wissen (kristalline Intelligenz), Ergebnisse des Handlungsteils spiegeln vor allem die vererbte Intelligenz wider (fluide Intelligenz) (Tewes, 1994). Anhand normierter Tabellen lassen sich die Leistungen eines Probanden mit den Leistungen der entsprechenden Altersgruppe vergleichen. Der Test wurde so konstruiert, dass keine systematischen Geschlechtsunterschiede gefunden wurden. Die Rohwerte der 11 Subskalen und die sich daraus ergebenden Verbal-, Handlungs- und Gesamt-Intelligenzquotienten wurden statistisch analysiert. In der vorliegenden Studie zeigten sich in beiden Gruppen signifikante Ergebnisse im Verbal-Quotient. Beide Gruppen zeigten auch Signifikanzen in je 2 Untertests des Verbalteils. Mehrere Trends im Verbalteil zeichneten sich ab.

Eine einheitliche Intelligenzdiagnostik ist im Hinblick auf die Untersuchung einer Assoziation eines bestimmten Polymorphismus mit kognitiven Fähigkeiten ein bedeutender Faktor, da unterschiedliche Tests in ihren kognitiven Anforderungen variieren können (Wager & Smith, 2003). Der HAWIE-R wurde als valides Testinstrument geprüft, jedoch können beeinflussende Faktoren nicht ausgeschlossen werden.

Die Objektivität der Durchführung des HAWIE-R muss durch genaue Handanweisungen sichergestellt sein. Eine Freigabe zur Untersuchung von Probanden mit dem HAWIE-R wurde in dieser Studie erst nach einer Prüfung des Interviewers durch die Studienleitung gewährleistet. Ein gewisser Ermessensspielraum des Einzelnen im Bezug auf die Punktevergabe in einigen Subtests ist dennoch nicht zu vermeiden, weshalb berücksichtigt werden muss, dass Testergebnisse, je nach Interviewer, bis zu einem gewissen Grad variieren können. Der Verbalteil des HAWIE-R besteht bis auf die Subtests Zahlennachsprechen und rechnerisches Denken aus offenen Fragen, eine Objektivität bei der Auswertung ist

hier nur schwer zu gewährleisten, da die vom Auswerter empfundene Qualität der Antwort in die Punktevergabe mit einfließt.

Das Alter der Probanden muss als die Studienergebnisse beeinflussender Faktor beachtet werden. Altersabhängige Veränderungen der kognitiven Funktionen sind inter-individuell sehr variabel und von biologischen-, psychologischen- und gesundheits- und umweltbedingten Faktoren sowie dem Lebensstil abhängig (Glisky 2007). Studien die mit funktioneller neuronaler Bildgebung arbeiteten konnten bei jungen und älteren Erwachsenen welche denselben kognitiven Test absolvierten unterschiedliche Bereiche von aktivierten Gehirnstrukturen darstellen (Grady et al., 2002; Reuter-Lorenz et al., 2000). Der HAWIE-R ist auf die Altersgruppe von 16 bis 74 Jahre geeicht, das Alter muss damit nur bei den Rohwerten der Untertests verrechnet werden, für den Handlung-, Verbal-, und Gesamt-IQ ist dies nicht nötig. In der vorliegenden Studie wurden Probanden im Alter von 18 bis 65 Jahren untersucht, Probanden über 60 wurden zusätzlich mit dem MMST auf kognitive Defizite überprüft.

Der Faktor Geschlecht sowie der Faktor Schulbildung wurden ebenfalls als Covariablen in die Statistik mit einberechnet. Intelligenztests wie der HAWIE-R werden geschlechtsfrei konstruiert; dies bedeutet, dass Aufgaben die zwischen weiblichem und männlichem Geschlecht differenzieren nicht in die Testbatterie aufgenommen werden (Amelang & Bartussek 2001). Die Genotypverteilung beider untersuchter Gene zeigten geringe Abweichungen zwischen männlichen und weiblichen Probanden (siehe Tabelle 4-4 und 4-10).

5.3 Diskussion der Ergebnisse

Die Intelligenz stellt eine multifaktorielle, komplexe Eigenschaft dar, welche durch genetische Einflüsse und verschiedenste Umweltfaktoren beeinflusst wird. Dies erschwert die Messung und Untersuchung der Intelligenz und muss bei kognitiven Tests, sowie bei Untersuchungen auf molekulargenetischer Ebene berücksichtigt werden (Plomin et al., 1999).

Assoziationsstudien bieten den Vorteil Suszeptibilitätsgene aufspüren zu können, sie sind daher zur Detektion des genetischen Anteils der kognitiven Fähigkeiten bzw. allgemeinen Intelligenz geeignet. Zur Untersuchung von Assoziationen zwischen Phänotyp und verschiedenen DNA-Varianten werden genetische Marker eingesetzt.

Diese stellen in der Regel SNPs oder RFLPs dar. Es muss beachtet werden, dass Differenzen bei komplexen Eigenschaften wie der Intelligenz nicht durch einen einzigen SNP bedingt sind, sondern von mehreren genetischen Variationen, die auf mehreren Genen liegen können, bedingt sein könnten. Auch Wechselwirkungen mit äußeren Einflüssen können eine Rolle spielen. Für eine effiziente Durchführung einer Assoziationsstudie ist deshalb die richtige Auswahl genetischer Variationen entscheidend (Plomin et al., 1999).

Da Neurofilamente eine bedeutende Rolle bei der strukturalen Hirnintegrität darstellen und damit in direkter Verbindung mit intakten kognitiven Funktionen stehen, wurden in der vorliegenden Arbeit zwei natürlich auftretende Sequenzvariationen im NEFL-Gen auf eine mögliche Assoziation mit kognitiven Leistungen untersucht. Die SNPs rs2976441 und rs11779795 liegen nicht in kodierenden Bereichen der NEFL-Gen Sequenzen, es kommt daher nicht zu einem Aminosäureaustausch. Klinische Auswirkungen der hier untersuchten SNPs konnten bisher nicht beschrieben werden. In der vorliegenden Studie wurden alle Probanden genotypisiert und die zwei zu bearbeitenden Polymorphismen wurden auf eine Assoziation mit Leistungen im HAWIE-R (Verbal-, Handlungs- und Gesamt-Intelligenzquotienten, sowie die Rohpunktwerte der elf Subtests) untersucht. Dabei wurden Allel- und Genotypfrequenzen getrennt betrachtet.

Für den Polymorphismus rs2976441 konnte kein Haupteffekt auf kognitive Leistungen festgestellt werden. Träger des T-Allels zeigten signifikant bessere Ergebnisse im Verbal-IQ. In zwei der Subtests des Verbalteils (Allgemeines Wissen und Gemeinsamkeiten finden) ergaben sich signifikant bessere Ergebnisse für T-Allel Träger. Untersuchungen des Genotyps zeigten keine signifikanten Ergebnisse für den Gesamt-IQ, Verbal-IQ und Handlungs-IQ. T/T Homozygote erzielten in den Subtests Allgemeines Wissen und Gemeinsamkeiten finden bessere Ergebnisse als homozygote Träger des C-Allels.

Auch für den Polymorphismus rs11779795 konnte kein Haupteffekt auf kognitive Leistungen festgestellt werden. Träger des T-Allels zeigten auch hier signifikant bessere Ergebnisse im Verbal-IQ. In zwei der Subtests des Verbalteils (Wortschatztest und Gemeinsamkeiten finden) ergaben sich signifikant bessere Ergebnisse für T-Allel Träger. Untersuchungen des Genotyps konnten einen Trend für den Verbal-IQ nachweisen. T/T Homozygote zeigten besserer Ergebnisse. In den

Subtest zeigte sich lediglich ein Trend für den Wortschatztest. Die Genotypen G/G und G/T erzielten bessere Ergebnisse als T/T Homozygote.

Polymorphismen des NEFL-Gens wurden bisher noch nicht in direktem Zusammenhang mit kognitiven Funktionen untersucht, es können deshalb keine Vergleichsstudien vorgezeigt werden. Auffällig ist die Assoziation beider Polymorphismen mit den Ergebnissen mit den Tests zur verbalen Intelligenz. Die Subtests des Verbalteils überprüfen vor allem die erlernte Intelligenz (kristalline Intelligenz). In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass durch Umwelteffekte beeinflusste verbale Fähigkeiten mit dem Volumen der grauen Substanz korrelieren. Gläscher et al. untersuchten 241 Patienten mit fokalen Gehirnläsionen auf kognitive Fähigkeiten. Dazu wurde bei allen Probanden die englische Version des HAWIE-R (WAIS) durchgeführt und Gehirnläsionen wurden mit Hilfe von CT- oder MRT-Bildern kartiert und mit voxel-basiertem Lesion-Symptom Mapping abgebildet (siehe Abb.5-1). Es konnte gezeigt werden, dass Defekte im linken inferioren Frontalkortex, im frontopolaren Kortex und parietalen Kortex zu schlechteren Leistungen bei den Subtests Gemeinsamkeiten finden, Wortschatztest und Allgemeines Wissen führen (Gläscher et al., 2009).

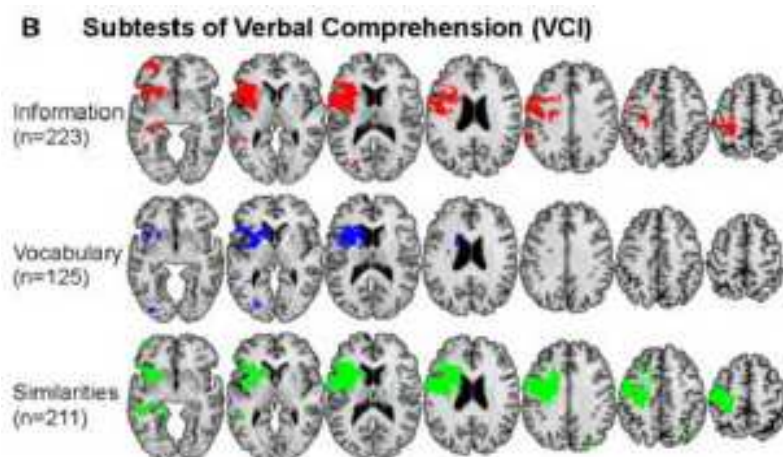


Abb.5-1: Voxel basiertes Lesion-Symptom Mapping. Analyse für die HAWIE-R Subtests Gemeinsamkeiten finden, Wortschatztest und Allgemeines Wissen (Gläscher et al., 2009).

Diskussion

Neurofilamente und NEFL im spezifischen sind in diesen Regionen im Vergleich zur Gesamtstruktur des Gehirns in hohem Prozentsatz vertreten (siehe Abb. 5-2). Inwiefern Neurofilamente und deren pathologische Veränderungen nach Hirnverletzungen direkte Auswirkungen auf Testergebnisse zu kognitiven Funktionen haben muss in Folgestudien untersucht werden.

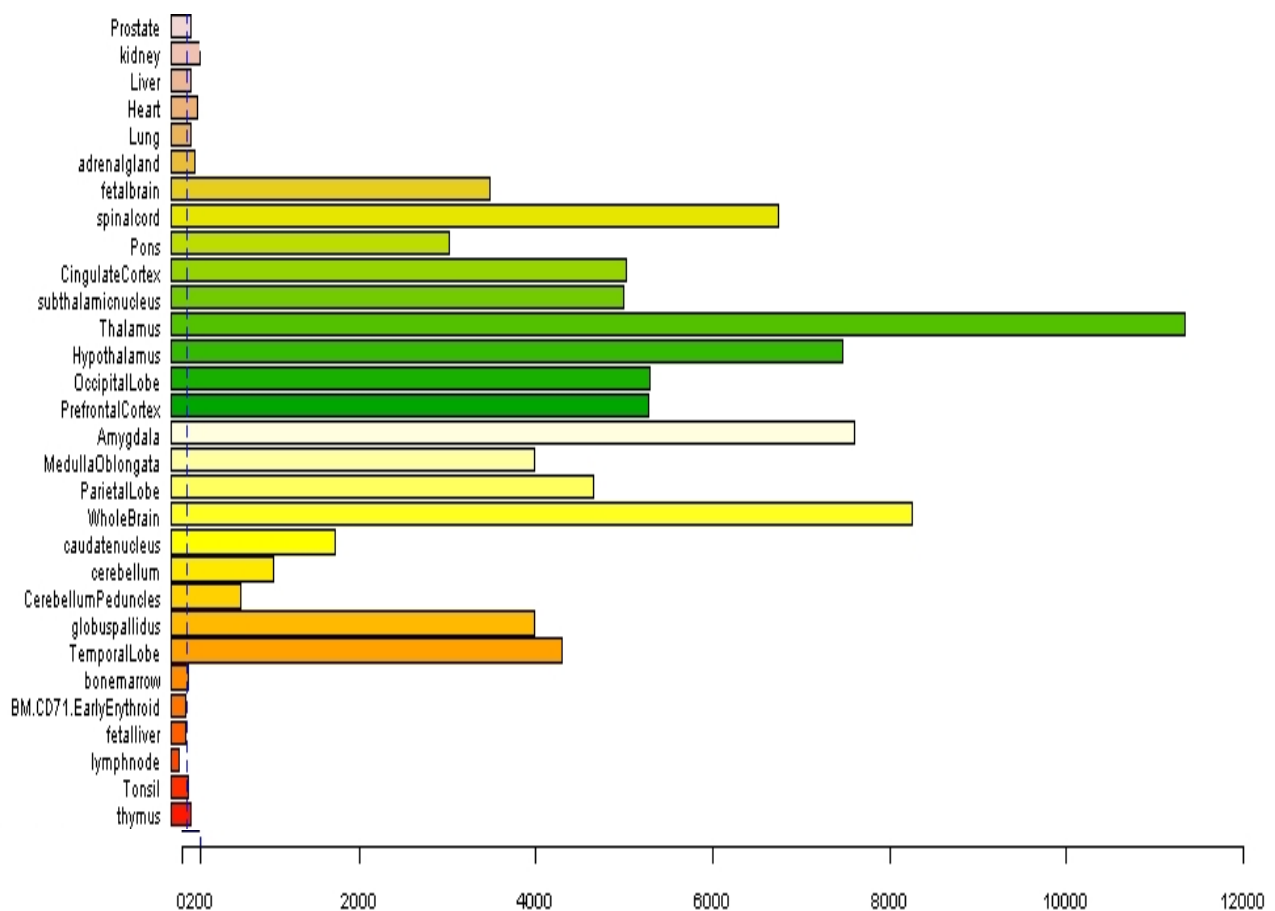


Abb. 5-2: Ausschnitt der Verteilung des NEFL-Polypeptids im menschlichen Gewebe (<http://bioinfo.vipbg.vcu.edu:8080/SZGR/displayGenepage.do?geneid=4747>).

Bekannt ist, dass durch Gehirnschädigung entstehende hyperphosphorylierte NEFL-Akkumulationen in kausalem Zusammenhang mit neurodegenerativen Erkrankungen wie Morbus Alzheimer, Morbus Parkinson, Chorea Huntington, Amyotropher Lateralsklerose, HIV induzierter Demenz, oder frontotemporaler Demenz stehen

(Lariviere & Julien, 2003). NEFL-Aggregation stellen damit ein Kennzeichen für neuronale Dysfunktionen dar (Liu et al., 2004b). In Bezug auf den Pathomechanismus der Alzheimer-Erkrankung stellen pathologische Neurofilament-Zusammenlagerungen, die eine Störung des neuronalen Zytoskeletts bewirken, einen der ersten visuell erkennbaren Faktoren dar (Ahlijanian et al., 2000; Nakamura et al., 1997). Die Ursache des abnormen biochemischen Prozesses der normale NEFL-Proteine in abnorme Formationen überführt, ist derzeit Gegenstand der Forschung. Eine im Gehirn von Alzheimerpatienten sowie Demenzpatienten zu beobachtende Hyperphosphorylation durch Nitration der NEFL-Proteine könnte eine abnorme Aggregation erklären (Alkam et al., 2008; Sobue et al., 1990; Rao & Nixon, 2003). Jedoch wäre auch eine Erklärung dieser Formationsänderungen über genetische Variationen im NEFL-Gen denkbar und sollte in folgenden Untersuchungen fokussiert werden. Inwieweit diese pathologischen Strukturveränderungen mit der bei Morbus Alzheimer auftretenden kognitiven Einschränkungen zusammenhängen, bleibt noch zu klären.

Auch bei neurodegenerativen Auswirkungen der Schizophrenie scheinen NEFL-Polypeptide einen Einfluss zu haben. In der Schizophrenieforschung wurden in einer kürzlich herausgegebenen Studie bei neun Schizophrenie-Patienten veränderte Neurofilament-Proteine der leichten Kette im dorsolateralen-, präfrontalen- und temporalen Kortex nachgewiesen (Martins-de-Souza et al., 2009). Inwieweit dieser Effekt die Symptomatik der Schizophrenie beeinflusst und ob es zu sekundärer oder primärer Strukturveränderung der NEFL kommt bzw. ob hier Zusammenhänge zu kognitiven Defiziten bestehen, wurde bisher nicht untersucht.

Ein weiterer Faktor der NEFL als ein Kandidatengen für Assoziationen mit kognitiven Fähigkeiten in Betracht ziehen lässt ist die Position des NEFL-Gens auf dem kurzen Arm des Chromosoms 8 (8p21.2). Das NEFL-Gen liegt in einer Region, deren Assoziation zu Schizophrenie seit langem Gegenstand der Forschung darstellt, und auch in neuesten Untersuchungen bestätigt wird. Die Schizophrenie stellt eine verbreitete neuropsychiatrische Erkrankung dar unter deren positiven Symptomen (Paranoia, Halluzinationen) und negativen Symptomen (Apathie, Anhedonie, sozialer Rückzug) eine erhebliche kognitive Beeinträchtigung die größten Einwirkungen auf die generelle Funktionsfähigkeit eines Individuums haben dürfte (Need et al. 2009).

Ausgehend von Kopplungsstudien von Blouin et al. und Pulver et al., die einen Suszeptibilitätslocus für Schizophrenie auf Chromosom 8p21 vermuten ließen (Blouin et al., 1998, Pulver et al., 1996), wurde in großangelegten genomweiten Kopplungs- und Assoziationsstudien nach einer Kopplung von Schizophrenie in dieser Region gesucht. Viele Publikationen konnten einen Zusammenhang von Loci auf Position 8p21 mit Schizophrenie darstellen und zeigten konstante signifikante Ergebnisse in verschiedenen genomweiten Studien (Fallin et al., 2011; Kim et al., 2010). Fokussierte Genloci zeigen auch in unterschiedlichen Populationen Konstanz (Harrison & Law, 2006; Liu (1) et al., 2005; Suarez et al., 2006; Lohoff et al., 2008).

In einer weiteren genomweiten Kopplungsstudie wurden große Mengen an SNPs von Familien mit an Schizophrenie erkrankten Mitgliedern untersucht. Analysiert wurden Marker von 807 europäischen Familien und 409 amerikanischen Familien afrikanischen Ursprungs sowie Familien mit europäischem Ursprung. Die Position 8p21 zeigte in allen Familien die beständigste Evidenz einer Kopplung mit Schizophrenie. Interessanterweise lag die markanteste Region nicht im Intervall des NRG1-Gens, welches seit langen als Kandidatengen auf Chromosom 8 diskutiert wird. Der detektierte Bereich beinhaltet auch die Position des NEFL-Gens und gibt Anhaltspunkte für einen weiteren bzw. weitere mit Schizophrenie assoziierte Loci der 8p21 Region und muss in weiteren Studien genauer untersucht werden (Holmans et al., 2009). Auch ein Zusammenhang von Genen der 8p21 Region mit kognitiven Funktionen wurde bisher kaum untersucht. Einzig die Arbeitsgruppe Kendler et al. konnte bei der Untersuchung schizophrener Familien auf Kopplung zu verschiedene Genloci feststellen, dass ein mutmaßliches Suszeptibilitätsgen für Schizophrenie auf Region 8p22-8p21 zu einer Prädisposition des Demenz-Präcox-Syndrom führt (Kendler et al., 2000).

Bisher detektierte NEFL-Polymorphismen sind fast ausnahmslos mit der Marie-Charcot-Tooth Erkrankung assoziiert. CMT ist klinisch durch progressive Schwäche und Atrophie der distalen Extremitätenmuskulatur, sensorischen Einschränkungen und reduzierte Reflexe charakterisiert, neurophysiologisch lässt sich eine sensomotorische Neuropathie feststellen. NEFL-Mutationen führen unter anderem zu einer Demyelinisierung von Axonen, einer Reduktion des axonalen Durchmessers und einer verlängerten Regenerationszeit von Nerven (Perez-Olle et al., 2002), betroffen sind vor allem Motoneurone und das periphere Nervensystem. CMT Patienten zeigen keine kognitiven Auffälligkeiten, ein direkter Einfluss auf kognitive

Fähigkeiten konnte in den bisher untersuchten NEFL-SNPs auch nicht dargestellt werden. Eine Ausnahme bildet die Studie von Filali et al. Die Untersuchung der NEFL-P22S Mutation an transgenen Mäusen zeigte neben den für CMT typischen sensomotorischen Funktionseinschränkungen ein kognitives Defizit in Form von verzögertem Erlernen der rechts-links Diskrimination (Filali et al., 2010). Inwiefern diese Erkenntnis einen ersten Hinweis auf die Beteiligung des NEFL-Gens an kognitiven Funktionen darstellen kann bleibt zu diskutieren und muss weiter untersucht werden.

5.4 Ausblicke auf zukünftige Untersuchungen

Studien die eine mögliche Assoziation zwischen Polymorphismen des NEFL-Gens und kognitiven Fähigkeiten untersuchen, wurden bisher nicht publiziert. Diese Dissertation liefert erste Hinweise eines Einflusses von zwei Polymorphismen des NEFL-Gens auf kognitive Fähigkeiten des Menschen.

Durch die Genotypisierung von zwei Polymorphismen an einer gesunden Stichprobe konnten erste signifikante Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen dem NEFL-Gen und kognitiven Leistungen erbracht werden. Inwiefern diese Polymorphismen jedoch tatsächlich eine bedeutende Rolle bezüglich kognitiver Leistungen spielen, muss in weiteren Studien untersucht werden. Aufgrund der Lage der SNPs in der Intergenregion lassen sich funktionelle bzw. kausale Hinweise nicht ableiten.

Die hier dargestellten Ergebnisse müssen auf Reproduzierbarkeit geprüft werden. Um vergleichbare Resultate zu erhalten, müssen folgende Untersuchungen mit ähnlichen Methoden (ethnische Abstammung, Rekrutierungsverfahren, Intelligenzdiagnostik) an Kontrollgruppen durchgeführt werden. Eine Replikation an einer unabhängigen Stichprobe und eine weitere Erhöhung der Stichprobenzahl sollten enthalten sein. Auch weitere, möglichst funktionelle SNPs des NEFL-Gens müssen in Bezug auf kognitive Leistungen untersucht werden.

Diese Studie kann nur einen kleinen Teil zur Intelligenzforschung beitragen. Das Ergebnis ist dennoch von Interesse, da eine Assoziation von NEFL mit neurodegenerativen Erkrankungen, welche fast immer mit kognitiven Funktionseinschränkungen assoziiert sind, festzustellen ist. Außerhalb dieser Untersuchung gibt es keine Studien die einen Zusammenhang zwischen Polymorphismen des NEFL-Gens und humanen kognitiven Fähigkeiten

untersuchten. Als Referenzen können deshalb nur Studien angeführt werden, die einen Zusammenhang von NEFL mit verschiedenen neurodegenerativen- und neuropsychiatrischen Erkrankungen untersuchten. Ob diese Veränderungen jedoch nur in Folge eines externen Einflusses, wie z. B. bei der Morbus Alzheimer bekannten, durch Desoxygenierung erfolgenden NEFL-Hyperphosphorylation sekundär vorkommen, oder ob ein primärer, durch Polymorphismen des NEFL-Gens hervorgerufener Einfluss eine mögliche Ursache darstellt, muss in weiteren Studien untersucht werden. Auch die Frage inwieweit pathologisch veränderte NEFL-Proteine einen direkten Einfluss auf Intelligenzfaktoren haben könnten, sollte in die Konzeption zukünftiger Tests mit einfließen und untersucht werden.

Die Intelligenz stellt ein sehr komplexes Konstrukt dar und kann nicht durch Veränderungen weniger SNPs bedingt sein. Die vorliegende Studie kann nur einen Mosaikstein in einem interagierenden Konstrukt multipler Gene darstellen. Um signifikante Assoziationen genetischer Faktoren und kognitiver Eigenschaften zu belegen, bedarf es weiterer Untersuchungen mit großer Anzahl von SNPs der in Frage kommenden Gene. Assoziationsstudien stellen dabei eine geeignete Methode zur Detektion von Suszeptibilitätsgenen dar.

Weitere Studien sollten strengen diagnostischen Kriterien an großen Stichproben verschiedener ethnischer Populationen folgen. Von Bedeutung ist auch die Untersuchung von sowohl neuropsychiatrisch gesunden- wie auch neuropsychiatrisch kranken Individuen um sowohl positive- wie auch negative Einflüsse auf kognitive Leistungen eruieren zu können.

6 Abkürzungen und Fachbegriffe

Abkürzungen & Fachbegriffe	Erklärung
A	Adenin/Adenosin
Abb.	Abbildung
AL-Puffer	Aluminium-Puffer
AMP	Adenosinmonophosphat
ALS	Amyotrophe Lateralsklerose
ANOVA	(analysis of variance) Analyse der Varianz
APP	Amyloid Precursor Protein
ApoE	Apolipoprotein E
bp	(base pairs) Basenpaare
BDNF	Brain-derived neurotrophic factor
C	Cytosin
c^2	Varianz gemeinsamer Umwelteinflüsse
ca.	circa
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
CMT	Charcot-Marie-Tooth Krankheit
CT	Computertomographie
df	(degrees of freedom) Freiheitsgrade
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (Fourth Edition)
DZ	Dizygote Zwillinge
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EZ	Monozygote Zwillinge
Fa.	Firma
FHAM	Family History Assessment Module
FTLD	Frontotemporale Lappendegeneration
G	Guanin/Guanosin
g	Allgemeine kognitive Fähigkeiten
GFAP	Glial fibrillary acidic protein
h^2	Varianz des genetischen Einflusses
HAWIE	Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene
HCl	Salzsäure
HIV	Humanes Immundefizienz Virus
IL1b	Interleukin1- beta

Abkürzungen & Fachbegriffe

IF	Intermediärfilamente
IQ	Intelligenzquotient
Lat.	Lateinisch
LEBI	Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar
m	Meter
m/z	Masse-/ Ladungsverhältnis
MANOVA	(multivariate analysis of variance) Multivariate Analyse der Varianz
Met	Methionin
MgCl ₂	Magnesium Chlorid
ml	Milliliter
MMST	Mini-Mental-State-Test
m-RNA	Messenger (Boten-) Ribonukleinsäure
MRT	Magnetresonanztomographie
MW	Mittelwert
n	Probandenzahl
NCV	Nervenleitungsgeschwindigkeit
NF	Neurofilamente
NEFL	Neurofilament light peptide (Leichte Kette)
NEFH	Neurofilament heavy peptide (Schwere Kette)
NEFM	Neurofilament middle peptide (Mittlere Kette)
NFP	Neurofilament-Proteine
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
NUDEL	Nuclear distribution element-like
p	(probability) Signifikanz, p-Wert
p (Chromosom)	(petit) kurzer Arm eines Chromosoms
PP-Röhrchen	Pipettierröhrchen
PCR	Polymerasekettenreaktion
pH	Negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration
PNS	Peripheres Nervensystem
Primer	DNA-Oligonukleotid
PSEN	Presenilin
q (Chromosom)	(queue) langer Arm eines Chromosoms
QTL	Quantitative Trait Loci
r	Reliabilität
RFLP	Restriktions-Fragmentlängen-Polymorphismus
rpm	(rounds per minute) Umdrehungen pro Minute

Abkürzungen & Fachbegriffe

s	Sekunde
SAP-Puffer	Shrimp Alkaline Phosphatase
SD	Standardabweichung
SES	Sozioökonomischer Status
SKID I	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV Achsel
SKID II	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV Achsell
SNP	Einzel (single)-Nukleotid-Polymorphismus
SPSS	Statistical Package for Social Science
SSADH	Succinate Semialdehyde Dehydrogenase
T	Thymidin
Tab.	Tabelle
TE	Tris-Ethylendiamintetraacetat Puffer
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan, Trometamol
Val	Valin
voxel	Volumetric/Pixel, Datenpunkt einer dreidimensionalen Rastergrafik
WAIS	Wechsler Adult Intelligence Scale
WCST	Wisconsin Card Sorting Test
WISC	Wechsler Intelligence Scale for Children
ZNS	Zentrales Nervensystem
µl	Mikroliter
µs	Mikrosekunden
°C	Grad Celsius
χ ² -Test	Chi-Quadrat-Test

7 Literaturverzeichnis

- 1 Abdellah Z, Ahmadi A, Ahmed S, et al.: Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature* 431:931-945, 2004.
- 2 Abdulle S, Mellgren A, Brew BJ, Cinque P, Hagberg L, Price RW, Rosengren L, Gisslén M: CSF neurofilament protein (NFL)- a marker of active HIV-related neurodegeneration. *J Neurol.* 254:1026-32, 2007.
- 3 Aguilera M, Barrantes-Vidal N, Arias B, Moya J, Villa H, Ibáñez MI, Ruipérez MA, Ortet G, Fañanás L: Putative role of the COMT gene polymorphism (Val158Met) on verbal working memory functioning in a healthy population. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 147B:898-902, 2008.
- 4 Ahljanian MK, Barrezueta NX, Williams RD, Jakowski A, Kowsz KP, McCarthy S, Coskran T, Carlo A, Seymour PA, Burkhardt JE, Nelson RB, McNeish JD: Hyperphosphorylated tau and neurofilament and cytoskeletal disruptions in mice overexpressing human p25, an activator of cdk5. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:2910-2915, 2000.
- 5 Al-Chalabi A, Miller CC: Neurofilaments and neurological disease. *Bioessays* 25:346-355, 2003.
- 6 Alkam T, Nitta A, Mizoguchi H, Itoh A, Nabeshima T: A natural scavenger of peroxynitrites, rosmarinic acid, protects against impairment of memory induced by Abeta. *Behav Brain Res* 180:139-145, 2007.
- 7 Alkam T, Nitta A, Mizoguchi H, Itoh A, Murai R, Nagai T, Yamada K, Nabeshima T: The extensive nitration of neurofilament light chain in the hippocampus is associated with the cognitive impairment induced by amyloid beta in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 327:137-147, 2008.
- 8 Almkvist O, Tallberg IM: Cognitive decline from estimated premorbid status predicts neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Neuropsychology* 23:117-24, 2009
- 9 Amat JA, Bansal R, Whiteman R, Haggerty R, Royal J, Peterson BS: Correlates of intellectual ability with morphology of the hippocampus and amygdala in healthy adults. *Brain Cogn* 66:105-114, 2008.
- 10 Amelang M, Bartussek D: *Differentielle Psychologie und Persönlichkeitsforschung* 6. Auflage Edition. Stuttgart; Berlin; Köln: Kohlhammer, 2006.
- 11 Ando J, Ono Y, Wright MJ: Genetic structure of spatial and verbal working memory. *Behav Genet* 31:615-624, 2001.
- 12 Apathy S: Nach welcher Richtung hin soll die Nervenlehre reformiert werden? *Biol Zentralal*, 1897.

- 13 Asbury K, Wachs T, Plomin R: Environmental moderators of genetic influence on verbal and nonverbal abilities in early childhood. *Intelligence* 33:643-661, 2005.
- 14 Avital A, Goshen I, Kamsler A, Segal M, Iverfeldt K, Richter-Levin G, Yirmiya R: Impaired interleukin-1 signaling is associated with deficits in hippocampal memory processes and neural plasticity. *Hippocampus* 13:826-834, 2003.
- 15 Baddeley AD: Is working memory still working? *Am Psychol* 56:851-864, 2001.
- 16 Bahmanyar S, Moreau-Dubois MC, Brown P, Cathala F, Gajdusek DC: Serum antibodies to neurofilament antigens in patients with neurological and other diseases and in healthy controls. *J Neuroimmunol* 5:191–196, 1983.
- 17 Bajo M, Yoo BC, Cairns N, Gratzer M, Lubec G: Neurofilament proteins NF-L, NF-M and NF-H in brain of patients with Down syndrome and Alzheimer's disease. *Amino Acids*.21:293-301, 2001.
- 18 Bartels M, Rietveld MJ, Van Baal GC, Boomsma DI: Genetic and environmental influences on the development of intelligence. *Behav Genet* 32:237-249, 2002.
- 19 Bartos A, Fialová L, Soukupová J, Kukal J, Malbohan I, Pitha J.: Antibodies against light neurofilaments in multiple sclerosis patients. *Acta Neurol Scand.* 116:100-7, 2007.
- 20 Bath KG, Lee FS: Variant BDNF (Val66Met) impact on brain structure and function. *Cogn Affect Behav Neurosci* 6:79-85, 2006.
- 21 Beaulieu JM, Robertson J, Julien JP: Interactions between peripherin and neurofilaments in cultured cells: disruption of peripherin assembly by the NF-M and NFH subunits. *BiochemCell Biol* 77:41–45, 1999.
- 22 Baune BT, Suslow T, Bešte C, Birosova E, Domschke K, Sehlmeier C, Konrad C: Association between genetic variants of the metabotropic glutamate receptor 3 (GRM3) and cognitive set shifting in healthy individuals. *Genes Brain Behav* 9:459-66, 2010.
- 23 Bergen SE, Gardner CO, Kendler KS: Age-related changes in heritability of behavioral phenotypes over adolescence and young adulthood: a meta-analysis. *Twin Res Hum Genet* 10:423-433, 2007.
- 24 Bergeron C, Beric-Maskarel K, Muntasser S: Neurofilament light and polyadenylated mRNA levels are decreased in amyotrophic lateral sclerosis motor neurons. *ME.Neuropathol Exp Neurol* 53:221-30, 1994.
- 25 Bergson C, Levenson R, Goldman-Rakic PS, Lidow: Dopamine receptor-interacting proteins: the Ca²⁺ connection in dopamine signaling. *Trends Pharmacol Sci* 24:486–492, 2003.

- 26 Bialecka M, Kurzawski M, Klodowska-Duda G, Opala G, Tan EK, Drozdziak M: The association of functional catechol-O-methyltransferase haplotypes with risk of Parkinson's disease, levodopa treatment response, and complications. *Pharmacogenet Genomics* 18:815-821, 2008.
- 27 Binet A, Henri V: La psychologie individuelle. *Année Psychologique* 2: 411-463, 1895.
- 28 Binet A, Simon T: Methodes nouvelles pour le diagnostique du nouveau intellectuel des anormaux. *Annee psychol* 11:191-244, 1904.
- 29 Blöink R: Die Struktur der Intelligenz im Hamburg-Wechsler- Intelligenztest für Erwachsene. HAWIE-III: Ein Beitrag zur Konstruktvalidität. Hamburg: Kovac, 2006.
- 30 Blouin JL, Dombroski BA, Nath SK, Lasseter VK, Wolyniec PS, Nestadt G, Thornquist M, Ullrich G, McGrath J, Kasch L, Lamacz M, Thomas MG, Gehrig C, Radhakrishna U, Snyder SE, Balk KG, Neufeld K, Swartz KL, DeMarchi N, Papadimitriou GN, Dikeos DG, Stefanis CN, Chakravarti A, Childs B, Housman DE, Kazazian HH, Antonarakis S, Pulver AE: Schizophrenia susceptibility loci on chromosomes 13q32 and 8p21. *Nat Genet* 20:70-3, 1998.
- 31 Boschert U, Merlo-Pich E, Higgins G, Roses AD, Catsicas S: Apolipoprotein E expression by neurons surviving excitotoxic stress. *Neurobiol Dis* 6:508-514, 1999.
- 32 Bouchard TJ, Lykken DT, McGue M, Segal NL, Tellegen A: Sources of human psychological differences: the Minnesota Study of Twins Reared Apart. *Science* 250:223-228, 1990.
- 33 Bouchard TJ, Jr.: Genetic and environmental influences on adult intelligence and special mental abilities. *Hum Biol* 70:257-279, 1998.
- 34 Bouchard TJ, Jr., McGue M: Genetic and environmental influences on human psychological differences. *J Neurobiol* 54:4-45, 2003.
- 35 Bronfenbrenner U, Ceci SJ: Nature-nurture reconceptualized in developmental perspective: a bioecological model. *Psychol Rev* 101:568-586, 1994.
- 36 Brownlees J, Ackerley S, Grierson AJ, Jacobsen NJ, Shea K, Anderton BH, Leigh PN, Shaw CE, Miller CC: Charcot- Marie-Tooth disease neurofilament mutations disrupt neurofilament assembly and axonal transport. *Hum Mol Genet* 11:2837-2844, 2002.
- 37 Bruder GE, Keilp JG, Xu H, Shikhman M, Schori E, Gorman JM, Gilliam TC: Catechol-O-methyltransferase (COMT) genotypes and working memory: associations with differing cognitive operations. *Biol Psychiatry* 58:901-907, 2005.
- 38 Bu G: Apolipoprotein E and its receptors in Alzheimer's disease: pathways, pathogenesis and therapy. *Nat Rev Neurosci* 10:333-344, 2009.

- 39 Butcher LM, Kennedy JK, Plomin R: Generalist genes and cognitive neuroscience. *Curr Opin Neurobiol* 16:145-151, 2006.
- 40 Butcher LM, Davis OS, Craig IW, Plomin R: Genome-wide quantitative trait locus association scan of general cognitive ability using pooled DNA and 500K single nucleotide polymorphism microarrays. *Genes Brain Behav* 7:435-446, 2008.
- 41 Butler AW, Ng MY, Hamshere ML, Forabosco P, Wroe R, Al-Chalabi A, Lewis CM, Powell JF: Meta-analysis of linkage studies for Alzheimer's disease--a web resource. *Neurobiol Aging* 30:1037-47, 2009.
- 42 Cacabelos R, Fernandez-Novoa L, Lombardi V, Kubota Y, Takeda M: Molecular genetics of Alzheimer's disease and aging. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 27 Suppl A:1-573, 2005.
- 43 Cajal SR: Embryogenesis of Neurofibrils. *Trab. Lab Investigaciones Biol. Univ. Madrid* 2:219-225, 1903.
- 44 Camp NJ, Farnham JM: Correcting for multiple analyses in genomewide linkage studies. *Ann Hum Genet* 65:577-582, 2001.
- 45 Camp NJ, Cox A: Methods in Molecular Biology, in Quantitative Trait Loci: Methods and Protocols, Vol. 195. Edited by, Humana Press, 2002.
- 46 Caselli RJ, Reiman EM, Osborne D, Hentz JG, Baxter LC, Hernandez JL, Alexander GG: Longitudinal changes in cognition and behavior in asymptomatic carriers of the APOE e4 allele. *Neurology* 62:1990-1995, 2004.
- 47 Castegna A, Thongboonkerd V, Klein JB, Lynn B, Markesbery WR, Butterfield DA: Proteomic identification of nitrated proteins in Alzheimer's disease brain. *J Neurochem* 85:1394-1401, 2003.
- 48 Cervilla J, Prince M, Joels S, Lovestone S, Mann A: Premorbid cognitive testing predicts the onset of dementia and Alzheimer's disease better than and independently of APOE genotype. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 75:1100-6, 2004.
- 49 Chiang MC, Barysheva M, Shattuck DW, Lee AD, Madsen SK, Avedissian C, Klunder AD, Toga AW, McMahon KL, de Zubicaray GI, Wright MJ, Srivastava A, Balov N, Thompson PM: Genetics of brain fiber architecture and intellectual performance. *J Neurosci* 29:2212-2224, 2009.
- 50 Choi YY, Shamosh NA, Cho SH, DeYoung CG, Lee MJ, Lee JM, Kim SI, Cho ZH, Kim K, Gray JR, Lee KH: Multiple bases of human intelligence revealed by cortical thickness and neural activation. *J Neurosci* 28:10323-10329, 2008.
- 51 Christen Y: Oxidative stress and Alzheimer disease. *Am J Clin Nutr* 71:621S-629S, 2000.

- 52 Cichon S: Variabilität im menschlichen Genom: Bedeutung für die Krankheitsforschung. Dtsch Arztebl 99:3091-3101, 2002.
- 53 Cohen J: Factors underlying Wechsler- Bellevue performance of three neuropsychiatric groups. J Abnorm Psychol 47:359-505, 1952a.
- 54 Cohen RM, Small C, Lalonde F, J, Sunderland T: Effect of apolipoprotein E genotype on hippocampal volume loss in aging healthy women. Neurology 57:2223-2228, 2001b.
- 55 Constantinescu R, Zetterberg H, Holmberg B, Rosengren L: Levels of brain related proteins in cerebrospinal fluid: an aid in the differential diagnosis of parkinsonian disorders. Parkinsonism Relat Disord. 15:205-212, 2009.
- 56 Corbo M, Hays AP: Peripherin and neurofilament protein coexist in spinal spheroids of motor neuron disease. J Neuropathol Exp Neurol 51:531–537, 1992.
- 57 Craig I, Plomin R: Quantitative trait loci for IQ and other complex traits: single-nucleotide polymorphism genotyping using pooled DNA and microarrays. Genes Brain Behav 5 Suppl 1:32-37, 2006.
- 58 Davis LJ, Hamlett IC, Reitan RM: Relationship of conceptual ability and academic achievement to problem solving and experimental backgrounds of retardates. Percept Motor Skills 22:499-505, 1996.
- 59 de Frias CM, Annerbrink K, Westberg L, Eriksson E, Adolfsson R, Nilsson LG: Catechol O-methyltransferase Val158Met polymorphism is associated with cognitive performance in nondemented adults. J Cogn Neurosci 17:1018-1025, 2005.
- 60 de Jong D, Jansen RW, Pijnenburg YA, van Geel WJ, Borm GF, Kremer HP, Verbeek MM: CSF neurofilament proteins in the differential diagnosis of dementia. J Neurol Neurosurg Psychiatry 78:936-938, 2007.
- 61 de Jonghe P, Mersivanova I, Nelis E, Del Favero J, Martin JJ, Van Broeckhoven C, Evgrafov O, Timmerman V: Further evidence that neurofilament light chain gene mutations can cause Charcot-Marie-Tooth disease type 2E. Ann Neurol 49:245-249, 2001.
- 62 de Knijff P, van den Maagdenberg AM, Frants RR, Havekes LM: Genetic heterogeneity of apolipoprotein E and its influence on plasma lipid and lipoprotein levels. Hum Mutat 4:178-194, 1994.
- 63 De Rango F, Leone O, Dato S, Novelletto A, Bruni AC, Berardelli M, Mari V, Feraco E, Passarino G, De Benedictis G: Cognitive functioning and survival in the elderly: the SSADH C538T polymorphism. Ann Hum Genet 72: 630-5, 2008.
- 64 De Waegh SM, Lee VM, Brady ST: Local modulation of neurofilament phosphorylation, axonal caliber, and slow axonal transport by myelinating Schwann cells. Cell 68:451–463, 1992.

- 65 Deary IJ, Whiteman MC, Pattie A, Starr JM, Hayward C, Wright AF, Carothers A, Whalley LJ: Cognitive change and the APOE epsilon 4 allele. *Nature* 418:932, 2002.
- 66 Deary IJ, Spinath FM, Bates TC: Genetics of intelligence. *Eur J Hum Genet* 14:690-700, 2006.
- 67 Deary IJ, Johnson W, Houlihan LM: Genetic foundations of human intelligence. *Hum Genet*, 2009.
- 68 Del Bo R, Moggio M, Rango M, Bonato S, D'Angelo MG, Ghezzi S, Airoldi G, Bassi MT, Guglieri M, Napoli L, Lamperti C, Corti S, Federico A, Bresolin N, Comi GP: Mutated mitofusin 2 presents with intrafamilial variability and brain mitochondrial dysfunction. *Neurology* 71:1959-66, 2008.
- 69 DeMille MM, Kidd JR, Ruggeri V, Palmatier MA, Goldman D, Odunsi A, Okonofua F, Grigorenko E, Schulz LO, Bonne-Tamir B, Lu RB, Parnas J, Pakstis AJ, Kidd KK: Population variation in linkage disequilibrium across the COMT gene considering promoter region and coding region variation. *Hum Genet* 111:521-537, 2002.
- 70 Deng Y, Li B, Liu Y, Iqbal K, Grundke-Iqbal I, Gong CX: Dysregulation of insulin signaling, glucose transporters, O-GlcNAcylation, and phosphorylation of tau and neurofilaments in the brain: Implication for Alzheimer's disease. *Am J Pathol.* 175:2089-98, 2009.
- 71 Devlin B, Fienberg SE, Resnick DP, Roeder K: Intelligence, genes and success: Scientists respond to The Bell Curve. New York, Springer, 1997.
- 72 Dickinson D, Elvevag B: Genes, cognition and brain through a catechol-O-methyltransferase lens. *Neuroscience*, 2009.
- 73 Doppelt JE, Wallace LL: Standardization of the Wechsler Adult Intelligence Scale for older persons. *J Abnorm Psychol* 51: 312-330, 1955.
- 74 Dowjat WK, Wisniewski H, Wisniewski T: Alzheimer's disease presenilin-1 expression modulates the assembly of neurofilaments. *Neuroscience* 103:1-8, 2001.
- 75 Dubois M, Lalonde R, Julien JP, Strazielle C: Mice with the deleted neurofilament of low-molecular-weight (Nefl) gene: 1. Effects on regional brain metabolism. *J Neurosci Res* 80:741-750, 2005.
- 76 Egan MF, Kojima M, Callicott JH, Goldberg TE, Kolachana BS, Bertolino A, Zaitsev E, Gold B, Goldman D, Dean M, Lu B, Weinberger DR: The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell* 112:257-269, 2003.
- 77 Egan MF, Straub RE, Goldberg TE, Yakub I, Callicott JH, Hariri AR, Mattay VS, Bertolino A, Hyde TM, Shannon-Weickert C, Akil M, Crook J, Vakkalanka RK, Balkissoon R, Gibbs RA, Kleinman JE, Weinberger DR: Variation in GRM3 affects cognition, prefrontal glutamate, and risk for schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:12604-9, 2004.

- 78 Ehlers MD, Tingley WG, Huganir RL: Regulated subcellular distribution of the NR1 subunit of the NMDA receptor. *Science* 269:1734–1737, 1995.
- 79 Elgh E, Lindqvist Astot A, Fagerlund M, Eriksson S, Olsson T, Näsman B: Cognitive dysfunction, hippocampal atrophy and glucocorticoid feedback in Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry*.15;59: 155-61, 2006.
- 80 Enoch MA, Waheed JF, Harris CR, Albaugh B, Goldman D: COMT Val158Met and cognition: main effects and interaction with educational attainment. *Genes Brain Behav* 8:36-42, 2009.
- 81 Evans DM, Gillespie NA, Martin NG: Biometrical genetics. *Biol Psychol* 61:33-51, 2002.
- 82 Fabrizi GM, Cavallaro T, Angiari C, Cabrini I, Taioli F, Malerba G, Bertolasi L, Rizzuto N: Charcot-Marie-Tooth disease type 2E, a disorder of the cytoskeleton. *Brain* 130:394–403, 2007.
- 83 Fagan AM, Holtzman DM: Astrocyte lipoproteins, effects of apoE on neuronal function, and role of apoE in amyloid-beta deposition in vivo. *Microsc Res Tech* 50:297-304, 2000.
- 84 Fallin MD, Lasseter VK, Liu Y, Avramopoulos D, McGrath J, Wolyniec PS, Nestadt G, Liang KY, Chen PL, Valle D, Pulver AE: Linkage and association on 8p21.2-p21.1 in schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 156:188-97, 2011.
- 85 Fan JB, Zhang CS, Gu NF, Li XW, Sun WW, Wang HY, Feng GY, St Clair D, He L: Catechol-O-methyltransferase gene Val/Met functional polymorphism and risk of schizophrenia: a large-scale association study plus meta-analysis. *Biol Psychiatry* 57:139-144, 2005.
- 86 Farlow MR, He Y, Tekin S, Xu J, Lane R, Charles HC: Impact of APOE in mild cognitive impairment. *Neurology* 63:1898-1901, 2004.
- 87 Fay E, Stumpf H: Intelligenzdaten, in *Psychologische Diagnostik*. (8.4). Edited by Jäger SR, Petermann F. Weinheim Psychologie Verlags Union, pp. 396-412,1999.
- 88 Fernyhough P, Gallagher A, Averill SA, Priestley JV, Hounsom L, Patel J, Tomlinson DR: Aberrant neurofilament phosphorylation in sensory neurons of rats with diabetic neuropathy. *Diabetes* 48:881-889, 1999.
- 89 Filali M, Dequen F, Lalonde R, Julien JP: Sensorimotor and cognitive function of a NEFL (P22S) mutant model of Charcot-Marie-Tooth disease type 2E. *Behav Brain Res* 219:175-80, 2011.
- 90 Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR: „Mini-mental state“ A practical method for grading the cognitiv state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 12 189-198, 1975.
- 91 Frangou S, Chitins X, Williams SC: Mapping IQ and gray matter density in healthy young people. *Neuroimage* 23:800-805, 2004.

- 92 Frazer KA, Ballinger DG, Cox DR, et al.: A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. *Nature* 449:851-861, 2007.
- 93 Friedman HS, Schustack MW: Persönlichkeitspsychologie und Differenzielle Psychologie 2 Edition. München: Pearson Studium, 2004.
- 94 Funke J, Vaterrodt-Plünnecke B: Was ist Intelligenz? 2. Edition. München: C.H. Beck Verlag, 2004.
- 95 Furth HG, Milgram NA: J Clin Psychol. Verbal factors in performance on WISC similarities:424-427, 1965.Colom R, Jung RE, Haier RJ: Distributed brain sites for the g-factor of intelligence. *Neuroimage* 31:1359-1365, 2006.
- 96 Gallardo Pujol D, Garcia-Forero C, Kramp U, Maydeu-Olivares A, Andrés-Pueyo A: IQ heritability estimation: analyzing genetically-informative data with structural equation models. *Psicothema* 19:156-162, 2007.
- 97 Galton, F: Hereditary Genius: An Inquiry Into its Laws and Consequences. 2nd ed. London: Macmillan, 1869.
- 98 Galton F: Inquiries into Human Faculty and its Developement. London: MacMillian, 1883.
- 99 Gardner, H: Multiple Intelligences: The Theory Into Practice. New York: Basic Books, 1993.
- 100 Gerrig RJ, Zimbardo PG: Psychologie 18 Edition. Muenchen: Pearson Studium, 2008.
- 101 Gignac G, Vernon P, Wickett J: Factors influencing the relationship between brain size and intelligence., in *The Scientific Study of General Intelligence*. Edited by Nyborg H. Amsterdam, Pergamon, 2003, pp. 93-106.
- 102 Gisslen M, Hagberg L, Brew BJ, Cinque P, Price RW, Rosengren L: Elevated cerebrospinal fluid neurofilament light protein concentrations predict the development of AIDS dementia complex. *J Infect Dis* 195:1774-1778, 2007.
- 103 Gläscher J, Tranel D, Paul LK, Rudrauf D, Rorden C, Hornaday A, Grabowski T, Damasio H, Adolphs R: Lesion mapping of cognitive abilities linked to intelligence. *Neuron*. 61;681:91, 2009.
- 104 Glisky EL.: Changes in Cognitive Function in Human Aging. In: Riddle DR, editor. *Brain Aging: Models, Methods, and Mechanisms*. Boca Raton (FL): CRC Press; Chapter 1, 2007.
- 105 Goedert M, Spillantini MG: A century of Alzheimer's disease. *Science* 314:777-781, 2006.
- 106 Goldberg TE, Weinberger DR: Genes and the parsing of cognitive processes. *Trends Cogn Sci* 8:325-335, 2004.

- 107 Gong CX, Lidsky T, Wegiel J, Zuck L, Grundke-Iqbal I, Iqbal K: Phosphorylation of microtubule-associated protein tau is regulated by protein phosphatase 2A in mammalian brain. Implications for neurofibrillary degeneration in Alzheimer's disease. *J Biol Chem* 275:5535-5544, 2000.
- 108 Goshen I, Kreisel T, Ounallah-Saad H, Renbaum P, Zalstein Y, Ben-Hur T, Levy-Lahad E, Yirmiya R: A dual role for interleukin-1 in hippocampal-dependent memory processes. *Psychoneuroendocrinology* 32:1106-1115, 2007.
- 109 Grady CL, Bernstein LJ, Beig S, Siegenthaler AL: The effects of encoding task on age-related differences in the functional neuroanatomy of face memory. *Psychol Aging* 17:7, 2002.
- 110 Guttmacher AE, Collins FS: Genomic medicine--a primer. *N Engl J Med* 347:1512-1520, 2002.
- 111 Haier RJ, Jung RE, Yeo RA, Head K, Alkire MT: Structural brain variation and general intelligence. *Neuroimage* 23:425-433, 2004.
- 112 A haplotype map of the human genome. *Nature* 437:1299-1320, 2005.
- 113 Harden KP, Turkheimer E, Loehlin JC: Genotype by environment interaction in adolescents' cognitive aptitude. *Behav Genet* 37:273-283, 2007.
- 114 Hardy J: The genetic causes of neurodegenerative diseases. *J Alzheimers Dis* 3:109-116, 2001.
- 115 Hariri AR, Goldberg TE, Mattay VS, Kolachana BS, Callicott JH, Egan MF, Weinberger DR: Brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism affects human memory-related hippocampal activity and predicts memory performance. *J Neurosci* 23:6690-6694, 2003.
- 116 Hart B, Risley TR: Meaningful differences in the everyday experience of young American children, in: Edited by. Baltimore, Paul H. Brooks, 1995.
- 117 Harwood DG, Barker WW, Ownby RL, Mullan M, Duara R: Apolipoprotein E genotype and cognitive impairment in community-dwelling black older adults. *Int J Psychiatry Med* 32:55-67, 2002.
- 118 Hashimoto K, Shimizu E, Iyo M: Critical role of brain-derived neurotrophic factor in mood disorders. *Brain Res Brain Res Rev* 45:104-114, 2004.
- 119 Haworth CM, Wright MJ, Luciano M, Martin NG, de Geus EJ, van Beijsterveldt CE, Bartels M, Posthuma D, Boomsma DI, Davis OS, Kovas Y, Corley RP, Defries JC, Hewitt JK, Olson RK, Rhea SA, Wadsworth SJ, Iacono WG, McGue M, Thompson LA, Hart SA, Petrill SA, Lubinski D, Plomin R: The heritability of general cognitive ability increases linearly from childhood to young adulthood. *Mol Psychiatry* 15:1112-20, 2009.
- 120 Heinz A, Smolka MN: The effects of catechol O-methyltransferase genotype on brain activation elicited by affective stimuli and cognitive tasks. *Rev Neurosci* 17:359-367, 2006.

- 121 Heller K: Begabungsdiagnostik in der Schul- und Erziehungsberatung. 2 Edition. Bern; Göttingen; Toronto; Seattle: Huber, 2000.
- 122 Hill WD, Arai M, Cohen JA, Trojanowski JQ: Neurofilament mRNA is reduced in Parkinson's disease substantia nigra pars compacta neurons. *J Comp Neurol* 329:328-336, 1993.
- 123 Hirano A.: Cytopathology of amyotrophic lateral sclerosis. *Adv Neurol* 56:91-101, 1991.
- 124 Holling H, Preckel F, Vock M: Intelligenzdiagnostik 1 Edition. Göttingen: Hogrefe, 2004.
- 125 Holmans PA, Riley B, Pulver AE, Owen MJ, Wildenauer DB, Gejman PV, Mowry BJ, Laurent C, Kendler KS, Nestadt G, Williams NM, Schwab SG, Sanders AR, Nertney D, Mallet J, Wormley B, Lasseter VK, O'Donovan MC, Duan J, Albus M, Alexander M, Godard S, Ribble R, Liang KY, Norton N, Maier W, Papadimitriou G, Walsh D, Jay M, O'Neill A, Lerer FB, Dikeos D, Crowe RR, Silverman JM, Levinson DF: Genomewide linkage scan of schizophrenia in a large multicenter pedigree sample using single nucleotide polymorphisms. *Mol Psychiatry*. 14:786-95, 2009.
- 126 Houlihan LM, Harris SE, Luciano M, w AJ, Starr JM, Visscher PM, Deary IJ: Replication study of candidate genes for cognitive abilities: the Lothian Birth Cohort 1936. *Genes Brain Behav* 8:238-247, 2009.
- 127 Hu YY, He SS, Wang XC, Duan QH, Khatoon S, Iqbal K, Grundke-Iqbal I, Wang JZ: Elevated levels of phosphorylated neurofilament proteins in cerebrospinal fluid of Alzheimer disease patients. *Neurosci Lett* 320:156-60, 2002.
- 128 Hulshoff Pol HE, Schnack HG, Posthuma D, Mandl RC, Baaré WF, van Oel C, van Haren NE, Collins DL, Evans AC, Amunts K, Bürgel U, Zilles K, de Geus E, Boomsma DI, Kahn RS: Genetic contributions to human brain morphology and intelligence. *J Neurosci* 26:10235-10242, 2006.
- 129 The International HapMap Project. *Nature* 426:789-796, 2003.
- 130 Irwin D, Lippa CF, Swearer JM.: Cognition and amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *Am J Alzheimers Dis Other Dement* 22:300-12, 2007.
- 131 Jäger AO: Intelligenzstrukturforschung: Konkurrierende Modelle, neue Entwicklungen, Perspektiven, *Psychologische Rundschau* 35: 21-35, 1984.
- 132 Jäger AO, Süß HM, Beauducel A: Der Berliner Intelligenzstruktur-Test (BIS-Test; Form 4). Göttingen: Hogrefe, 1997.
- 133 Jones TL, Prinz RJ: Potential roles of parental self-efficacy in parent and child adjustment: a review. *Clin Psychol Rev* 25:341-363, 2005.
- 134 Jordanova A, De Jonghe P, Boerkoel CF, Takashima H, De Vriendt E, Ceuterick C, Martin JJ, Butler IJ, Mancias P, Papasozomenos SCh, Terespolsky D, Potocki L, Brown CW, Shy M, Rita DA, Tournev I,

- Kremensky I, Lupski JR, Timmerman V: Mutations in the neurofilament light chain gene (NEFL) cause early onset severe Charcot-Marie-Tooth disease. *Brain* 126:590–597, 2003.
- 135 Julien JP, Grosveld F, Yazdanbaksh K, Flavell D, Meijer D, Mushynski W: The structure of a human neurofilament gene (NF-L): a unique exon-intron organization in the intermediate filament gene family. *Biochim Biophys Acta* 909:10-20, 1987.
- 136 Kagan J: A parent's influence is peerless, Boston Globe, 1998.
- 137 Kaufmann AS, Lichtenberger EO: Essentials of WAIS-III assessment. New York: John Willey & Sons, 1999.
- 138 Keller JN, Schmitt FA, Scheff SW, Ding Q, Chen Q, Butterfield DA, Markesbery WR: Evidence of increased oxidative damage in subjects with mild cognitive impairment. *Neurology* 64:1152-1156, 2005.
- 139 Keller JN: Interplay between oxidative damage, protein synthesis, and protein degradation in Alzheimer's disease. *J Biomed Biotechnol* 2006:12129, 2006.
- 140 Kendler KS, Myers JM, O'Neill FA, Martin R, Murphy B, MacLean CJ, Walsh D, Straub RE: Clinical features of schizophrenia and linkage to chromosomes 5q, 6p, 8p, and 10p in the Irish Study of High-Density Schizophrenia Families. *Am J Psychiatry* 157:402-8, 2000.
- 141 Khachaturian ZS: Toward a comprehensive theory of Alzheimer's disease--challenges, caveats, and parameters. *Ann N Y Acad Sci* 924:184-193, 2000.
- 142 Kim SH, Song JY, Joo EJ, Lee KY, Ahn YM, Kim YS: EGR3 as a potential susceptibility gene for schizophrenia in Korea. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 153B:1355-60, 2010.
- 143 Kittur S, Hoh J, Endo H, Tourtellotte W, Weeks BS, Markesbery W, Adler W: Cytoskeletal neurofilament gene expression in brain tissue from Alzheimer's disease patients. I. Decrease in NF-L and NF-M message. *J Geriatr Psychiatry Neurol.* 7:153-8, 1994.
- 144 Klages JD, Fisk JD, Rockwood K: APOE genotype, memory test performance, and the risk of Alzheimer's disease in the Canadian Study of Health and Aging. *Dement Geriatr Cogn Disord* 15:1-5, 2003.
- 145 Koppal T, Drake J, Yatin S, dan B, Varadarajan S, Bettenhausen L, Butterfield DA: Peroxynitrite-induced alterations in synaptosomal membrane proteins: insight into oxidative stress in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 72:310-317, 1999.
- 146 Kulczycki J, Bertrand E, Lojkowska W, Dowjat W, Wiśniewski T, Łyczywek-Zwierz M: [Familial Alzheimer's disease connected with mutation in presenilin gene 1 (P117L)]. *Neurol Neurochir Pol* 35:213-224, 2001.

- 147 Kunugi H, Nanko S, Ueki A, Otsuka E, Hattori M, Hoda F, Vallada HP, Arranz MJ, Collier DA: High and low activity alleles of catechol-O-methyltransferase gene: ethnic difference and possible association with Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 221:202-204, 1997.
- 148 Lariviere RC, Julien JP: Functions of intermediate filaments in neuronal development and disease. *J Neurobiol* 58:131-148, 2004.
- 149 Laske C, Eschweiler GW: Brain-derived neurotrophic factor. Vom Nervenwachstumsfaktor zum Plastizitätsmodulator bei kognitiven Prozessen und psychischen Erkrankungen. *Nervenarzt* 77:523-537, 2005.
- 150 Lee MK, Marszalek JR, Cleveland DW : A mutant neurofilament subunit causes massive, selective motor neuron death: implications for the pathogenesis of human motor neuron disease. *Neuron* 13:975–988, 1994.
- 151 Lees JF, Shneidman PS, Skuntz SF, Carden MJ, Lazzarini RA: The structure and organization of the human heavy neurofilament subunit (NF-H) and the gene encoding it. *EMBO J* 7:1947-1955, 1988.
- 152 Lehmann DJ, Refsum H, Nurk E, Warden DR, Tell GS, Vollset SE, Engedal K, Nygaard HA, Smith AD: Apolipoprotein E epsilon4 and impaired episodic memory in community-dwelling elderly people: a marked sex difference. The Hordaland Health Study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 77:902-908, 2006.
- 153 Leigh PN, Dodson A, Swash M, Brion JP, Anderton BH: Cytoskeletal abnormalities in motor neuron disease. An immunocytochemical study. *Brain* 112:521–535, 1989.
- 154 Leuba G, Vernay A, Zimmermann V, Saini K, Kraftsik R, Savioz A: Differential damage in the frontal cortex with aging, sporadic and familial Alzheimer's disease. *Brain Res Bull* 80:196-202, 2009.
- 155 Levavasseur F, Zhu Q, Julien JP: No requirement of alpha-internexin for nervous system development and for radial growth of axons. *Brain Res Mol Brain Res* 69:104-112, 1999.
- 156 Li J, Pan YC, Li YX, Shi TL: [Analysis and application of SNP and haplotype in the human genome]. *Yi Chuan Xue Bao* 32:879-889, 2005.
- 157 Liu CM, Hwu HG, Fann CS, Lin CY, Liu YL, Ou-Yang WC, Lee SF: Linkage evidence of schizophrenia to loci near neuregulin 1 gene on chromosome 8p21 in Taiwanese families. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 134B:79-83, 2005a.
- 158 Liu Q, Xie F, Siedlak SL, Nunomura A, Honda K, Moreira PI, Zhua X, Smith MA, Perry G: Neurofilament proteins in neurodegenerative diseases. *Cell Mol Life Sci* 61:3057-3075, 2004b.
- 159 Loehlin JC, Horn JM, Willerman L: Modeling IQ change: evidence from the Texas Adoption Project. *Child Dev* 60:993-1004, 1989.

- 160 Loehlin JC, Horn JM, Ernst JL: Genetic and environmental influences on adult life outcomes: evidence from the Texas Adoption Project. *Behav Genet* 37:463-476, 2007.
- 161 Luciano M, Wright M, Smith GA, Geffen GM, Geffen LB, Martin NG: Genetic covariance among measures of information processing speed, working memory, and IQ. *Behav Genet* 31:581-592, 2001.
- 162 Luciano M, Wright MJ, Duffy DL, Wainwright MA, Zhu G, Evans DM, Geffen GM, Montgomery GW, Martin NG: Genome-wide scan of IQ finds significant linkage to a quantitative trait locus on 2q. *Behav Genet* 36:45-55, 2006.
- 163 Luu P, Posner MI : Anterior cingulate cortex regulation of sympathetic activity. *Brain* 126:2119-20, 2003.
- 164 Lykken DT, McGue M, Tellegen A, Bouchard TJ Jr: Emergenesis. Genetic traits that may not run in families. *Am Psychol* 47:1565-1577, 1992.
- 165 Ma D, Descarries L, Micheva KD, Lepage Y, Julien JP, Doucet G: Severe neuronal losses with age in the parietal cortex and ventrobasal thalamus of mice transgenic for the human NF-L neurofilament protein. *J Comp Neurol* 406:433-448, 1999.
- 166 Martins-De-Souza D, Gattaz WF, Schmitt A, Rewerts C, Marangoni S, Novello JC, Maccarrone G, Turck CW, Dias-Neto E: Alterations in oligodendrocyte proteins, calcium homeostasis and new potential markers in schizophrenia anterior temporal lobe are revealed by shotgun proteome analysis. *J Neural Transm* 116:275-289, 2009.
- 167 Martins-De-Souza D, Dias-Neto E, Schmitt A, Falkai P, Gormanns P, Maccarrone G, Turck CW, Gattaz WF: Proteome analysis of schizophrenia brain tissue. *World J Biol Psychiatry* 11:110-20, 2010.
- 168 Matarazzo JD: Die Messung und Bewertung der Intelligenz Erwachsener nach Wechsler. Bern, Stuttgart, Wien: Hans Huber, 1982.
- 169 Mayo O: Early research on human genetics using the twin method: who really invented the method? *Twin Res Hum Genet* 12:237-245, 2009.
- 170 McClearn GE, Johansson B, Berg S, Pedersen NL, Ahern F, Petrill SA, Plomin R: Substantial genetic influence on cognitive abilities in twins 80 or more years old. *Science* 276:1560-1563, 1997.
- 171 McGue M, Bouchard TJ, Jr. I, W. G., et al.: Behavioral genetics of cognitive ability: A life-span perspective in Nature, nurture, and psychology. Edited by Plomin R, McClearn GE. Washington DC, American Psychological Association., 1993.
- 172 McGue M, Christensen K: The heritability of cognitive functioning in very old adults: evidence from Danish twins aged 75 years and older. *Psychol Aging* 16:272-280, 2001.

- 173 McGue M, Keyes M, Sharma A, Elkins I, Legrand L, Johnson W, Iacono WG: The environments of adopted and non-adopted youth: evidence on range restriction from the Sibling Interaction and Behavior Study (SIBS). *Behav Genet* 37:449-462, 2007.
- 174 Meier J, Couillard-Despres S, Jacomy H, Gravel C, Julien JP: Extra neurofilament NF-L subunits rescue motor neuron disease caused by overexpression of the human NF-H gene in mice. *J Neuropathol Exp Neurol* 58:1099–1110, 1999.
- 175 Menzies FM, Ince PG, Shaw PJ: Mitochondrial involvement in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurochem Int* 40:543-51, 2002.
- 176 Mersiyanova IV, Perepelov AV, Polyakov AV, Sitnikov VF, Dadali EL, Oparin RB, Petrin AN, Evgrafov OV: A new variant of Charcot-Marie-Tooth disease type 2 is probably the result of a mutation in the neurofilament-light gene. *Am J Hum Genet* 67:37–46, 2000.
- 177 Millecamps S, Gowing G, Corti O, Mallet J, Julien JP: Conditional NF-L transgene expression in mice for in vivo analysis of turnover and transport rate of neurofilaments. *J Neurosci* 27:4947-4956, 2007.
- 178 Miltenberger-Miltenyi G, Janecke AR, Wanschitz JV, Timmerman V, Windpassinger C, Auer-Grumbach M, Löscher WN: Clinical and electrophysiological features in Charcot-Marie-Tooth disease with mutations in the NEFL gene. *Arch Neurol* 64:966-970, 2007.
- 179 Miyajima F, Ollier W, Mayes A, Jackson A, Thacker N, Rabbitt P, Pendleton N, Horan M, Payton A: Brain-derived neurotrophic factor polymorphism Val66Met influences cognitive abilities in the elderly. *Genes Brain Behav* 7:411-417, 2008.
- 180 Möller, HJ, Laux G, Deister, A.: Schizophrenie. In Bob, A. und Bob, K. (eds.), *Psychiatrie und Psychotherapie, Duale Reihe*. 2nd ed. Georg-Thieme Verlag, Stuttgart, 2001.
- 181 Myers DG: *Psychologie 2 Edition*. Heidelberg: Springer, 2008a.
- 182 Myers MW, Lazzarini RA, Lee VM, Schlaepfer WW, Nelson DL: The human mid-size neurofilament subunit: a repeated protein sequence and the relationship of its gene to the intermediate filament gene family. *EMBO J* 6:1617-1626, 1987b.
- 183 Nackley AG, Shabalina SA, Lambert JE, Conrad MS, Gibson DG, Spiridonov AN, Satterfield SK, Diatchenko L: Low enzymatic activity haplotypes of the human catechol-O-methyltransferase gene: enrichment for marker SNPs. *PLoS ONE* 4:e5237, 2009.
- 184 Narr KL, Woods RP, Thompson PM, Szeszko P, Robinson D, Dimtcheva T, Gurbani M, Toga AW, Bilder RM: Relationships between IQ and regional cortical gray matter thickness in healthy adults. *Cereb Cortex* 17:2163-2171, 2007.

- 185 Need AC, Ge D, Weale ME, Maia J, Feng S, Heinzen EL, Shianna KV, Yoon W, Kasperaviciūte D, Gennarelli M, Strittmatter WJ, Bonvicini C, Rossi G, Jayathilake K, Cola PA, McEvoy JP, Keefe RS, Fisher EM, St Jean PL, Giegling I, Hartmann AM, Möller HJ, Ruppert A, Fraser G, Crombie C, Middleton LT, St Clair D, Roses AD, Muglia P, Francks C, Rujescu D, Meltzer HY, Goldstein DB: A genome-wide investigation of SNPs and CNVs in schizophrenia. *PLoS Genet.* 5:e1000373, 2009.
- 186 Nguyen MD, Lariviere RC, Julien JP: Deregulation of Cdk5 in a mouse model of ALS: toxicity alleviated by perikaryal neurofilament inclusions. *Neuron* 30:135-147, 2001.
- 187 Nunomura A, Perry G, Aliev G, Hirai K, Takeda A, Balraj EK, Jones PK, Ghanbari H, Wataya T, Shimohama S, Chiba S, Atwood CS, Petersen RB, Smith MA: Oxidative damage is the earliest event in Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 60:759-767, 2001.
- 188 O'Hara R, Miller E, Liao CP, Way N, Lin X, Hallmayer J: COMT genotype, gender and cognition in community-dwelling, older adults. *Neurosci Lett* 409:205-209, 2006.
- 189 Ohara O, Gahara Y, Miyake T, Teraoka H, Kitamura T: Neurofilament deficiency in quail caused by nonsense mutation in neurofilament-L gene. *J Cell Biol* 121:387-395, 1993.
- 190 Omary MB, Coulombe PA, McLean WH: Intermediate filament proteins and their associated diseases. *N Engl J Med* 351:2087-2100, 2004.
- 191 Papassotiropoulos A, Henke K, Aerni A, Coluccia D, Garcia E, Wollmer MA, Huynh KD, Monsch AU, Stähelin HB, Hock C, Nitsch RM, de Quervain DJ: Age-dependent effects of the 5-hydroxytryptamine-2a-receptor polymorphism (His452Tyr) on human memory. *Neuroreport* 16:839-842, 2005.
- 192 Pedersen N, Plomin R, Nesselroade J, Metz KF, Abbott RA, Goss FL: A quantitative genetic analysis of cognitive abilities during the second half of the life span. *Psychological Science* 3 346-353, 1992.
- 193 Perez-Olle R, Leung CL, Liem RK: Effects of Charcot- Marie-Tooth-linked mutations of the neurofilament light subunit on intermediate filament formation. *J Cell Sci* 115:4937–4946, 2002.
- 194 Perrot R, Lonchampt P, Peterson AC, Eyer J: Axonal neurofilaments control multiple fiber properties but do not influence structure or spacing of nodes of Ranvier. *J Neurosci* 27:9573-9584, 2007.
- 195 Perry G, Nunomura A, Hirai K, Zhu X, Pérez M, Avila J, Castellani RJ, Atwood CS, Aliev G, Sayre LM, Takeda A, Smith MA: Is oxidative damage the fundamental pathogenic mechanism of Alzheimer's and other neurodegenerative diseases? *Free Radic Biol Med* 33:1475-1479, 2002.

- 196 Petrill SA (ed.). The case for general intelligence: a behavioral genetic perspective. In The general factor of intelligence: How general is it?. Erlbaum Associates, 2002.
- 197 Pezawas L, Verchinski BA, Mattay VS, Callicott JH, Kolachana BS, Straub RE, Egan MF, Meyer-Lindenberg A, Weinberger DR: The brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism and variation in human cortical morphology. *J Neurosci* 24:10099-10102, 2004.
- 198 Phukan J, Pender NP, Hardiman O: Cognitive impairment in amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet Neurol* 6:994-1003, 2007.
- 199 Pijnenburg YA, Janssen JC, Schoonenboom NS, Petzold A, Mulder C, Stigbrand T, Norgren N, Heijst H, Hack CE, Scheltens P, Teunissen CE: CSF neurofilaments in frontotemporal dementia compared with early onset Alzheimer's disease and controls. *Dement Geriatr Cogn Disord* 23:225-230, 2007.
- 200 Pitas RE, Boyles JK, Lee SH, Hui D, Weisgraber KH: Lipoproteins and their receptors in the central nervous system. Characterization of the lipoproteins in cerebrospinal fluid and identification of apolipoprotein B,E(LDL) receptors in the brain. *J Biol Chem* 262:14352-14360, 1987.
- 201 Platzer M: The human genome and its upcoming dynamics. *Genome Dyn* 2:1-16, 2006.
- 202 Plomin R: Multivariate analysis and development behavioral genetics: developmental change as well as continuity. *Behav Genet* 16:25-43, 1986.
- 203 Plomin R, deFries JC, McClearn GE, Rutter M: Gene, Umwelt und Verhalten. Einführung in die Verhaltensgenetik. Bern; Göttingen; Toronto; Seattle: Huber, 1999.
- 204 Plomin R, DeFries JC, McClearn GE, McGuffin P: Behavioral Genetics 4. Edition. New York: Worth Publishers, 2001.
- 205 Plomin R, Kosslyn SM: Genes, brain and cognition. *Nat Neurosci* 4:1153-1154, 2001.
- 206 Plomin R, Spinath FM: Intelligence: genetics, genes, and genomics. *J Pers Soc Psychol* 86:112-129, 2004.
- 207 Plomin R, Turic DM, Hill L, Turic DE, Stephens M, Williams J, Owen MJ, O'Donovan MC: A functional polymorphism in the succinate-semialdehyde dehydrogenase (aldehyde dehydrogenase 5 family, member A1) gene is associated with cognitive ability. *Mol Psychiatry* 9:582-586, 2004.
- 208 Polderman TJ, Gosso MF, Posthuma D, Van Beijsterveldt TC, Heutink P, Verhulst FC, Boomsma DI: A longitudinal twin study on IQ, executive functioning, and attention problems during childhood and early adolescence. *Acta Neurol Belg* 106:191-207, 2006.

- 209 Polidori MC, Griffiths HR, Mariani E, Mecocci P: Hallmarks of protein oxidative damage in neurodegenerative diseases: focus on Alzheimer's disease. *Amino Acids* 32:553-559, 2007.
- 210 Posthuma D, De Geus EJ, Baare WF, Hulshoff Pol HE, Kahn RS, Boomsma DI: The association between brain volume and intelligence is of genetic origin. *Nat Neurosci* 5:83-84, 2002.
- 211 Posthuma D, Luciano M, Geus EJ, Wright MJ, Slagboom PE, Montgomery GW, Boomsma DI, Martin NG: A genomewide scan for intelligence identifies quantitative trait loci on 2q and 6p. *Am J Hum Genet* 77:318-326, 2005.
- 212 Prata DP, Mechelli A, Fu CH, Picchioni M, Kane F, Kalidindi S, McDonald C, Howes O, Kravariti E, Demjaha A, Touloupoulou T, Diforti M, Murray RM, Collier DA, McGuire PK: Opposite effects of catechol-O-methyltransferase Val158Met on cortical function in healthy subjects and patients with schizophrenia. *Biol Psychiatry* 65:473-480, 2009.
- 213 Propping P: Genetische Diagnostik vor dem Hintergrund von Millionen Polymorphismen. *Dtsch Arztebl* 101, 2004.
- 214 Pulver AE, Wolyniec PS, Housman D, Kazazian HH, Antonarakis SE, Nestadt G, Lasseter VK, McGrath JA, Dombroski B, Karayiorgou M, Ton C, Blouin JL, Kempf L: The Johns Hopkins University Collaborative Schizophrenia Study: an epidemiologic-genetic approach to test the heterogeneity hypothesis and identify schizophrenia susceptibility genes. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 61:797-814, 1996.
- 215 Purkinje JE: Untersuchungen aus der Nerven und Hirnanatomie. *Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte*, 1838.
- 216 Rabin LA, Barr WB, Burton LA: Assessment practices of clinical neuropsychologists in the United States and Canada: a survey of INS, NAN, and APA Division 40 members. *Arch Clin Neuropsychol.* 20:33-65, 2005.
- 217 Rao MV, Nixon RA: Defective neurofilament transport in mouse models of amyotrophic lateral sclerosis: a review. *Neurochem Res.* 28:1041-7, 2003.
- 218 Rapaport SR: Intellectual deficit in organics and schizophrenics. *J Consult Psychol.* 389-395, 1953.
- 219 Raz N, Rodrigue KM, Kennedy KM, Land S: Genetic and vascular modifiers of age-sensitive cognitive skills: effects of COMT, BDNF, ApoE, and hypertension. *Neuropsychology* 23:105-116, 2009.
- 220 Reilly MM, Hanna MG: Genetic neuromuscular disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 73 Suppl 2:II12-21, 2002.
- 221 Reiman EM, Chen K, Alexander GE, Caselli RJ, Bandy D, Osborne D, Saunders AM, Hardy J: Functional brain abnormalities in young adults at genetic risk for late-onset Alzheimer's dementia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:284-289, 2004.

- 222 Reuter-Lorenz PA, Jonides J, Smith EE, Hartley A, Miller A, Marshuetz C, Koeppe RA: Age differences in the frontal lateralization of verbal and spatial working memory revealed by PET. *J Cognit Neurosci* 12:174-81, 2000.
- 223 Reynolds CA, Prince JA, Feuk L, Brookes AJ, Gatz M, Pedersen NL: Longitudinal memory performance during normal aging: twin association models of APOE and other Alzheimer candidate genes. *Behav Genet* 36:185-194, 2006.
- 224 Rice JP, Reich T, Bucholz KK, Neuman RJ, Fishman R, Rochberg N, Hesselbrock VM, Nurnberger JI Jr, Schuckit MA, Begleiter H: Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res* 19:1023-1018, 1995.
- 225 Richter V, Guthke J: Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI). Handanweisung. Göttingen, Bern, Toronto, Seattle: Hogrefe, 1994.
- 226 Roth E: Intelligenz. Grundlagen und neuere Forschung 1. Edition. Stuttgart; Berlin; Köln: Kohlhammer, 1998.
- 227 Rowe DC, Jacobson KC, van den Oord EJCG: Genetic and environmental influences on vocabulary IQ: parental education level as moderator. *Child Dev* 70:1151-1162, 1999.
- 228 Roy S, Coffee P, Smith G, Liem RK, Brady ST, Black MM: Neurofilaments are transported rapidly but intermittently in axons: implications for slow axonal transport. *J Neurosci* 20:6849–6861, 2000.
- 229 Ryan JD, Cohen NJ: Evaluating the neuropsychological dissociation evidence for multiple memory systems. *Cogn Affect Behav Neurosci* 3: 168-85, 2003.
- 230 Sacksteder CA, Qian WJ, Knyushko TV, Wang H, Chin MH, Lacan G, Melega WP, Camp DG 2nd, Smith RD, Smith DJ, Squier TC, Bigelow DJ: Endogenously nitrated proteins in mouse brain: links to neurodegenerative disease. *Biochemistry* 45:8009-8022, 2006.
- 231 Sanelli TR, Sopper MM, Strong MJ: Sequestration of nNOS in neurofilamentous aggregate bearing neurons in vitro leads to enhanced NMDA-mediated calcium influx. *Brain Res* 1004:8-17, 2004.
- 232 Schindowski K, Belarbi K, Buee L: Neurotrophic factors in Alzheimer's disease: role of axonal transport. *Genes Brain Behav* 7 Suppl 1:43-56, 2008.
- 233 Schipper HM: Apolipoprotein E: Implications for AD neurobiology, epidemiology and risk assessment. *Neurobiol Aging*, 2009.
- 234 Schmitt FO: Fibrous proteins- neuronal organelles. *Proc Nadl Acad Sci USA* 60:92-101, 1968.
- 235 Schulte-Herbruggen O, Braun A, Rochlitzer S, Jockers-Scherübl MC, Hellweg R: Neurotrophic factors - a tool for therapeutic strategies in

- neurological, neuropsychiatric and neuroimmunological diseases? *Curr Med Chem* 14:2318-2329, 2007.
- 236 Segal NL: Virtual twins: New findings on withinfamily environmental influences on intelligence. *J Ed Psych* 92:442-448, 2000.
 - 237 Sherman SL, DeFries JC, Gottesman, II, Loehlin JC, Meyer JM, Pelias MZ, Rice J, Waldman I: Behavioral genetics '97: ASHG statement. Recent developments in human behavioral genetics: past accomplishments and future directions. *Am J Hum Genet* 60:1265-1275, 1997.
 - 238 Sivagnanasundaram S, Crossett B, Dedova I, Cordwell S, Matsumoto I: Abnormal pathways in the genu of the corpus callosum in schizophrenia pathogenesis: a proteome study. *Proteomics Clin Appl* 1:1291–1305, 2007.
 - 239 Sjögren M, Blomberg M, Jonsson M, Wahlund LO, Edman A, Lind K, Rosengren L, Blennow K, Wallin A: Neurofilament protein in cerebrospinal fluid: a marker of white matter changes. *J Neurosci Res* 1:510-6, 2001.
 - 240 Skre H: Genetic and clinical aspects of Charcot-Marie- Tooth's disease. *Clin Genet* 6:98–118, 1974.
 - 241 Slagboom PE, Meulenbelt I: Organisation of the human genome and our tools for identifying disease genes. *Biol Psychol* 61:11-31, 2002.
 - 242 Smith MA, Richey Harris PL, Sayre LM, Beckman JS, Perry G: Widespread peroxynitrite-mediated damage in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 17:2653-2657, 1997.
 - 243 Sobue G, Hashizume Y, Yasuda T, Mukai E, Kumagai T, Mitsuma T, Trojanowski JQ: Phosphorylated high molecular weight neurofilament protein in lower motor neurons in amyotrophic lateral sclerosis and other neurodegenerative diseases involving ventral horn cells. *Acta Neuropathol.* 79: 402–408, 1990.
 - 244 Soei E, Koch B, Schwarz M, Daum I.: Involvement of the human thalamus in relational and non-relational memory *Eur J Neurosci.* 28:2533-41, 2008.
 - 245 Spearman CE: "General Intelligence" Objectively Determined and Measured. *The American Journal of Psychology* 15, 201-292, 1904.
 - 246 Spearman CE: The nature of intelligence and the principles of cognition. London: MacMillian, 1923.
 - 247 Spotts EL, Neiderhiser JM, Towers H, Hansson K, Lichtenstein P, Cederblad M, Pederson NL, Reiss D: Genetic and environmental influences on marital relationships. *J Fam Psychol* 18:107-119, 2004.
 - 248 Stam CJ, Jones BF, Nolte G, Breakspear M, Scheltens P: Small-world networks and functional connectivity in Alzheimer's disease. *Cereb Cortex* 17:92-99, 2007.

- 249 Stefansson K, Marton LS, Dieperink ME, Molnar GK, Schlaepfer WW, Helgason CM: Circulating autoantibodies to the 200,000-Dalton protein of neurofilaments in the serum of healthy individuals. *Science* 228:1117–1119, 1985.
- 250 Stern W: *Intelligenzproblem und Schule*. Leipzig: Teubner, 1911.
- 251 Sternberg: *International Handbook of Intelligence* 1 Edition. Cambridge: Cambridge University Press, 2004.
- 252 Sternberg RJ: *Beyond IQ: A triarchic theory of human intelligence*. New York: Cambridge University Press, 1985.
- 253 Sternberg RJ: *International Handbook of Intelligence* first Edition. Cambridge: Cambridge University Press, 2004.
- 254 Sternberg RJ, Davidson JE: *Conceptions of Giftedness* 2 Edition. Cambridge: Cambridge University Press, 2005.
- 255 Strong MJ, Sopper MM, Crow JP, Strong WL, Beckman JS: Nitration of the low molecular weight neurofilament is equivalent in sporadic amyotrophic lateral sclerosis and control cervical spinal cord. *Biochem Biophys Res Commun* 248:157-164, 1998.
- 256 Suarez BK, Duan J, Sanders AR, Hinrichs AL, Jin CH, Hou C, Buccola NG, Hale N, Weill-Engerer AN, Nertney DA, Olincy A, Green S, Schaffer AW, Smith CJ, Hannah DE, Rice JP, Cox NJ, Martinez M, Mowry BJ, Amin F, Silverman JM, Black DW, Byerley WF, Crowe RR, Freedman R, Cloninger CR, Levinson DF, Gejman PV: Genomewide linkage scan of 409 European ancestry and African American families with schizophrenia: suggestive evidence of linkage at 8p23.3-p21.2 and 11p13.1- q14.1 in the combined sample. *Am J Hum Genet* 78:315-33, 2006.
- 257 Sultana R, Poon HF, Cai J, Pierce WM, Merchant M, Klein JB, Markesbery WR, Butterfield DA: Identification of nitrated proteins in Alzheimer's disease brain using a redox proteomics approach. *Neurobiol Dis* 22:76-87, 2006.
- 258 Szeszko PR, Lipsky R, Mentschel C, Robinson D, Gunduz-Bruce H, Sevy S, Ashtari M, Napolitano B, Bilder RM, Kane JM, Goldman D, Malhotra AK: Brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism and volume of the hippocampal formation. *Mol Psychiatry* 10:631-636, 2005.
- 259 Tan HY, Chen Q, Sust S, Buckholtz JW, Meyers JD, Egan MF, Mattay VS, Meyer-Lindenberg A, Weinberger DR, Callicott JH: Epistasis between catechol-O-methyltransferase and type II metabotropic glutamate receptor 3 genes on working memory brain function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:12536-41, 2007.
- 260 Tewes U: *Hamburger-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene - Revision 1991*, 2 Edition. Göttingen, Bern, Toronto, Seattle: Hogrefe, 1994.

- 261 The Psychological Corporation. WAIS-III/WMS-III Technical Manual. San Antonio, TX: Author; 1997.
- 262 Theuns J, Del-Favero J, Dermaut B, van Duijn CM, Backhovens H, Van den Broeck MV, Serneels S, Corsmit E, Van Broeckhoven CV, Cruts M: Genetic variability in the regulatory region of presenilin 1 associated with risk for Alzheimer's disease and variable expression. *Hum Mol Genet* 9:325-331, 2000.
- 263 Thompson P, Cannon TD, Narr KL, van Erp T, Poutanen VP, Huttunen M, Lönqvist J, Standertskjöld-Nordenstam CG, Kaprio J, Khaledy M, Dail R, Zoumalan CI, Toga AW: Genetic influences on brain structure. *Nat Genet* 4:1253-1258, 2001.
- 264 Thurstone LL, Thurstone TG: Factorial studies of intelligence. Chicago: University of Chicago Press, 1941.
- 265 Toga AW, Thompson PM: Genetics of brain structure and intelligence. *Annu Rev Neurosci* 28:1-23, 2005.
- 266 Tran MH, Yamada K, Nakajima A, Mizuno M, He J, Kamei H, Nabeshima T: Tyrosine nitration of a synaptic protein synaptophysin contributes to amyloid beta-peptide-induced cholinergic dysfunction. *Mol Psychiatry* 8:407-412, 2003.
- 267 Tsai SJ, Hong CJ, Yu YW, Chen TJ: Association study of a brain-derived neurotrophic factor (BDNF) Val66Met polymorphism and personality trait and intelligence in healthy young females. *Neuropsychobiology* 49:13-16, 2004.
- 268 Tunbridge EM, Harrison PJ, Weinberger DR: Catechol-o-methyltransferase, cognition, and psychosis: Val158Met and beyond. *Biol Psychiatry* 60:141-151, 2006.
- 269 Turkheimer E, Waldron M: Nonshared environment: a theoretical, methodological, and quantitative review. *Psychol Bull* 126:78-108, 2000.
- 270 Turkheimer E, Haley A, Waldron M, D'Onofrio B, Gottesman II: Socioeconomic status modifies heritability of IQ in young children. *Psychol Sci* 14:623-628, 2003.
- 271 Valentin G: Über den Verlauf und die letzten Enden der Nerven. *Nova Acta Physico- Medica Academiae Caesareae Leopoldino Carolinae* 18:51-71, 1836.
- 272 Venter JC, Adams MD, Myers EW, et al.: The sequence of the human genome. *Science* 291:1304-1351, 2001.
- 273 Vink JM, Boomsma DI: Gene finding strategies. *Biol Psychol* 61:53-71, 2002.

- 274 Vogel P, Gabriel M, Goebel HH, Dyck PJ: Hereditary motor sensory neuropathy type II with neurofilament accumulation: new finding or new disorder? *Ann Neurol* 17:455–461, 1985.
- 275 Wager TD, Smith EE: Neuroimaging studies of working memory: A meta-analysis. *Cogn Affect Behav Neurosci* 3: 255-274, 2003
- 276 Wang Y, Wang Q, Wang J: [Detection of level and mutation of neurofilament mRNA in Alzheimer's disease]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 82:519-522, 2002a.
- 277 Wang YP, Wei ZL, Wang XC, Wang Q, Wang JZ: [Comparative study of the expression and phosphorylation of neurofilament proteins of brain gray matter in Alzheimer's disease]. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao* 23:445-449, 2001b.
- 278 Wechsler D: Measurement of adult intelligence. Baltimore: Williams & Wilkins, 1939.
- 279 Wechsler D: Die Messung der Intelligenz Erwachsener. Textband zum Hamburger-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene. Bern: Huber, 1964.
- 280 Wechsler D: Die Messung der Intelligenz Erwachsener 3. unveränderte Edition. Bern: Huber, 1964. Wechsler D: The measurement of adult intelligence. Baltimore: Williams & Wilkins, 1939
- 281 Wilson RS, Schneider JA, Barnes LL, Beckett LA, Aggarwal NT, Cochran EJ, Berry-Kravis E, Bach J, Fox JH, Evans DA, Bennett DA: The apolipoprotein E epsilon 4 allele and decline in different cognitive systems during a 6-year period. *Arch Neurol* 59:1154-1160, 2002.
- 282 Wishart HA, Saykin AJ, Rabin LA, Santulli RB, Flashman LA, Guerin SJ, Mamourian AC, Belloni DR, Rhodes CH, McAllister TW: Increased brain activation during working memory in cognitively intact adults with the APOE epsilon4 allele. *Am J Psychiatry* 163:1603-1610, 2006.
- 283 Wittchen HU, Zaudig M, Fydrich T: SKID-I und SKID-II Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV 1 Edition. Göttingen, Bern, Toronto, Seattle: Hogrefe, 1997
- 284 Wong NK, He BP, Strong MJ: Characterization of neuronal intermediate filament protein expression in cervical spinal motor neurons in sporadic amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *J Neuropathol Exp Neurol* 59:972-82, 2000.
- 285 Wright IC, Sham P, Murray RM, Weinberger DR, Bullmore ET: Genetic contributions to regional variability in human brain structure: methods and preliminary results. *Neuroimage* 17:256-271, 2002.
- 286 Xu Z, Cork LC, Griffin JW, Cleveland DW: Increased expression of neurofilament subunit NF-L produces morphological alterations that resemble the pathology of human motor neuron disease. *Cell* 73:23-33, 1993.

- 287 Yamasaki H, Bennett GS, Itakura C, Mizutani M: Defective expression of neurofilament protein subunits in hereditary hypotrophic axonopathy of quail. *Lab Invest* 66:734–743, 1992.
- 288 Yan Y, Jensen K, Brown A: The polypeptide composition of moving and stationary neurofilaments in cultured sympathetic neurons. *Cell Motil Cytoskeleton* 64:299-309, 2007.
- 289 Yang X, Yang Y, Luo Y, Li G, Wang J, Yang ES: Hyperphosphorylation and accumulation of neurofilament proteins in transgenic mice with Alzheimer presenilin 1 mutation. *Cell Mol Neurobiol* 29:497-501, 2009.
- 290 Yates DM, Manser C, De Vos KJ, Shaw CE, McLoughlin DM, Miller CC: Neurofilament subunit (NFL) head domain phosphorylation regulates axonal transport of neurofilaments. *Eur J Cell Biol* 88:193-202, 2009.
- 291 Yuan A, Rao MV, Sasaki T, Chen Y, Kumar A, Veeranna, Liem RK, Eyer J, Peterson AC, Julien JP, Nixon RA: Alphainterneixin is structurally and functionally associated with the neurofilament triplet proteins in the mature CNS. *J Neurosci* 26:10006–10019, 2006.
- 292 Zannis VI, Breslow JL: Apolipoprotein E. *Mol Cell Biochem* 42:3-20, 1982.
- 293 Zetterberg H, Jacobsson J, Rosengren L, Blennow K, Andersen PM: Cerebrospinal fluid neurofilament light levels in amyotrophic lateral sclerosis: impact of SOD1 genotype. *Eur J Neurol* 14:1329-33, 2007.
- 294 Zhu J, Tulskey DS, Price L, Chen HY: WAIS-III reliability data for clinical groups. *J Int Neuropsychol Soc.* 7:862-6, 2001a.
- 295 Zhu Q, Couillard-Despres S, Julien JP: Delayed maturation of regenerating myelinated axons in mice lacking neurofilaments. *Exp Neurol* 148:299-316, 1997b.
- 296 Zuccato C, Cattaneo E: Brain-derived neurotrophic factor in neurodegenerative diseases. *Nat Rev Neurol* 5:311-322, 2009.

8 Danksagung

Ich bedanke mich bei Herrn Prof. Dr. med. Möller für die Möglichkeit der Durchführung dieser Promotionsarbeit an der von ihm geleiteten Psychiatrischen Universitätsklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Ich bedanke mich bei Herrn Prof. Dr. med. Rujescu für die Möglichkeit der Durchführung dieser Arbeit in seiner Forschungsgruppe für Molekulare und Klinische Neurobiologie.

Bei Frau Dipl. Psych. Dr. Ina Giegling und Frau Dr. biol. hum. Annette Hartmann bedanke ich mich sehr herzlich für die hervorragende Betreuung, die Unterstützung bei der statistischen Auswertung sowie bei labortechnischen und genetischen Angelegenheiten, die Beratung und das Korrekturlesen bei der Niederschrift dieser Arbeit sowie die kompetente und sehr hilfreiche Betreuung bei der praktischen Durchführung dieser Arbeit.

Auch Frau Dr. Heike Konnerth möchte ich sehr herzlich für die hervorragende Betreuung und Unterstützung in allen mit der Arbeit verbundenen Angelegenheiten danken. Dank der sehr guten und freundschaftlichen Zusammenarbeit mit Frau Konnerth und den anderen Doktoranden war es eine sehr schöne sowie auch lehrreiche Zeit.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinen Kollegen und Freunden Frau Anna Pfister und Herrn Andreas von Hahn für die hervorragende Teamarbeit und zuverlässige Unterstützung während allen Phasen der Entstehung dieser Arbeit.

Meinem Bruder Hannes Weisser danke ich sehr herzlich für zahlreiche Stunden des Korrekturlesens.

Sehr herzlich bedanke ich mich bei meinen Eltern die mir mit ihrer Liebe und bedingungslosen Unterstützung immer zur Seite stehen und mir meine Ausbildung ermöglichten.

Ebenso gilt mein Dank allen Probanden, die sich als Teilnehmer für diese Studie zur Verfügung gestellt haben.

